

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK
HASARINDA RELAKSİNİN ETKİLERİ**

(Doktora Tezi)

Ayşegül İLHAN TARHAN

Referans no: 10155886

EDİRNE-2017

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK
HASARINDA RELAKSİNİN ETKİLERİ**

(Doktora Tezi)

Ayşegül İLHAN TARHAN

**Destekleyen Kurum: Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
(TÜBİTAK-115S959)**

Tez No:

EDİRNE-2017

KABUL VE ONAY

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

ONAY

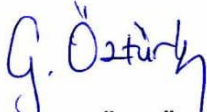
Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı doktora programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU danışmanlığında doktora öğrencisi Ayşegül İLHAN TARHAN tarafından tez başlığı “**Deneysel Miyoglobinin Akut Böbrek Hasarında Relaksinin Etkileri**” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı **05/07/2017** tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “Doktora Tezi” olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU
JÜRİ BAŞKANI



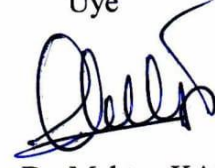
Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK
Üye



Prof. Dr. Güler ÖZTÜRK
Üye



Prof. Dr. Hakan ERBAŞ
Üye



Doç. Dr. Mehtap KAÇAR
Üye

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü

TEŐEKKÜR

Doktora eğitim s¼recimde ve çalıŐmalarım sırasında bilimsel katkıları ile yardımlarını ve desteğini esirgemeyen tez danıŐmanım ve Anabilim Dalı BaŐkanımız Sayın Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya, bilgi ve tecr¼belerinden yararlandığım saygıdeğer hocalarım emekli Prof. Dr. Kadir KAYMAK'a, Prof. Dr. Levent ÖZT¼RK'e, Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR'a, Yrd. Doç. Dr. Mevl¼t YAPRAK'a; tez çalıŐmamda emekleri olan Prof. Dr. Necdet S¼T'e, Yrd. Doç. Dr. Ebru TAŞTEKİN'e, Öğr. Gör. Dr. Meryem DEMİRCAN POYRAZ'a, Öğr. Gör. Dr. Oktay KAYA'ya, Nihayet KANDEMİR'e, Semiha UZUN'a, Vet. Hek. Ziya ÇUKUR'a, Miray UÇAR'a; Fizyoloji Anabilim Dalı çalıŐanlarına, eğitim hayatımda emeği geçen tüm hocalarıma ve TÜBİTAK'a teŐekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
AKUT BÖBREK HASARI	3
OKSİDATİF STRES	8
ANTIOKSİDANLAR	10
GLUTATYON	11
NİTRİK OKSİT	12
AKUT BÖBREK HASARINDA KULLANILAN BİYOBELİRTEÇLER	14
RELAKSİN	16
GEREÇ VE YÖNTEMLER	19
BULGULAR	35
TARTIŞMA	77
SONUÇLAR	84
ÖZET	86
SUMMARY	88
KAYNAKLAR	90
ŞEKİLLER LİSTESİ	100
TABLolar LİSTESİ	103
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

ABH	: Akut Böbrek Hasarı
ABY	: Akut Böbrek Yetmezliği
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
ATN	: Akut Tübüler Nekroz
ATP	: Adenozin trifosfat
CK	: Kreatin kinaz
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
FeNa	: Fraksiyonel Sodyum Atılımı
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
GSH	: Glutasyon
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
INSL3	: Insulin Like Peptide 3
im.	: İntramüsküler
KIM-1	: Kidney Injury Molecule-1
LDH	: Laktat dehidrogenaz
mABH	: Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı
MDA	: Malondialdehit
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
PBS	: Phosphate Buffer Saline

RNT	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
RXFP	: Relaxin Family Peptide
RXFP1	: Relaxin Family Peptide Receptor 1
RXFP2	: Relaxin Family Peptide Receptor 2
RXFP3	: Relaxin Family Peptide Receptor 3
RXFP4	: Relaxin Family Peptide Receptor 4
sc.	: Subkutan
TBA	: Tiyobarbitürik Asit



GİRİŞ VE AMAÇ

Akut böbrek hasarı (ABH), genellikle böbrek fonksiyonlarının aniden bozulmasıyla karakterize olup, glomerüler filtrasyon hızında ani bir azalma olarak tanımlanmaktadır (1,2). Kritik hastalar için ABH önemli bir mortalite ve morbidite sebebidir. Gelişen tüm yöntem ve tedavilere rağmen morbidite ve mortalite yüksek düzeylerini korumaktadır (3).

Rabdomiyoliz, travma veya travma dışı nedenlere bağlı olarak çizgili kasların hasarlanması sonucu hücre içi bileşimin sistemik dolaşıma geçmesi olarak tanımlanmaktadır (4). Rabdomiyolizin majör sebeplerinden biri “crush” sendromudur (5). “Crush” sendromu, travmaya bağlı rabdomiyoliz sonucunda ortaya çıkan, travmanın doğrudan etkisinden sonra depremlerde ikinci sırada ölüme yol açan sistemik bir hastalıktır (6). Dünyada yaygın kazazedelerin olduğu felaketler; 1908 yılında Güney İtalya’da Messina depremi, 1941 yılında Londra bombardımanları, 1982 yılında Lübnan Beyrut’ta Amerika Birleşik Devletleri büyükelçiliğinin yıkılması, 1989 yılında Loma Preita depreminin tetiklediği San Francisco-Oakland Körfezi Köprüsü’nün yıkılması, 1995 yılında Hanshin-Awji depremi ve 1999 yılında Türkiye’deki İzmit depremi “crush” hasarı da dahil olmak üzere rabdomiyolizi ön plana çıkardığı bildirilmiştir (7). Rabdomiyolizin en önemli komplikasyonu %17-33 oranında görülen akut böbrek hasarıdır (8). Rabdomiyolizle indüklenen böbrek hasarının, tüm akut böbrek hasarı vakalarının %15 kadarını oluşturduğu rapor edilmiştir (9).

Sıçanlarda gliserol ile geliştirilen akut böbrek hasarı modeliyle, böbreklerde incelenen patolojik değişikliklerin, rabdomiyolizli ve intravasküler hemolizli insanlarda görülen ABH süreciyle benzer olduğu bildirilmiştir (10). Mevcut çalışmada sıçanlara intramusküler gliserol enjeksiyonu yapılarak rabdomiyoliz aracılı miyoglobürik akut böbrek hasarı (mABH)

oluşturuldu. Literatür değerlendirildiğinde mevcut deneysel modelde relaksinin etkilerinin incelendiği başka bir çalışma bulunmamaktadır.

Relaksin 1920’li yıllarda Frederick L. Hisaw tarafından keşfedilmiş, anti-inflamatuvar, anti-apoptotik, vazodilatatör ve anti-fibrotik etkiye sahip bir hormondur (11-13). Relaksinin majör etkisi sistemik ve vasküler tonusun düzenlenmesini içerir ancak bu olaya birçok mekanizma eşlik etmektedir. Endotelin sistem ile etkileşiminin özellikle önemli olduğu vurgulanmaktadır (14). Bۆbrekte relaksin önemli bir vazodilatatördür ve bu etkisini büyük oranda nitrik oksit (NO) üretimini arttırmasıyla gerçekleştirdiği düşünölmektedir. Fakat relaksinin NO sistemini nasıl aktive ettiği bilinmemektedir. Nitrik oksit fizyolojik olarak bۆbrek fonksiyonlarının sürdürölmesinde önemli rol oynamaktadır. Endotelial disfonksiyon ve hipertansiyon gelişimi ile ilişkilendirilen nitrit oksit eksikliği ayrıca kronik bۆbrek hastalığıyla da ilişkilendirilmektedir. Bۆbreklerde NO’nun sodyum geri emilimi, oksidatif stres, ekstraselöler matriks üretimi, kontraktil hücrelerinin büyümesinin inhibisyonu ve renal vazodilatasyonu da içeren birçok yararlı etkilere neden olduğu rapor edilmiştir (13). Gliserol aracılı ABH miyoglobini, tüböl nekroz ve renal vazokonstriksiyonla karakterize edilir (15,16). Akut bۆbrek hasarında NO ve NO biyoyararlılığının azalması endotel disfonksiyonuna sebep olmaktadır (17).

Çalışmamızda bu bilgiler yol gösterici olup, mABH’de relaksinin bۆbrek fonksiyonları, fizyopatolojisi ve nitrik oksit mekanizması üzerine olan etkilerini araştırmayı amaçladık. Bu çalışmada elde edilecek sonuçlar, relaksinin ABH patogenezindeki ilişkisi ile ABH gelişimini engellemede koruyucu bir ajan olarak kullanılıp kullanılmayacağı konusunda fikir verecektir.

GENEL BİLGİLER

AKUT BÖBREK HASARI

Akut böbrek hasarı, böbrek ekskretuar fonksiyonlarda (böbrek atılım fonksiyonlarında) ani bir azalma olup, kreatinin ve nitrojenli atık ürünlerin kanda geri dönüşümlü olarak artışı, idrar miktarında azalma, sıvı ve elektrolit dengesini düzenleyen böbreğin yetersizliğiyle karakterizedir. Glomerüler filtrasyon hızında (GFR) ani bir azalma olarak da tanımlanmaktadır (2,18).

Tıp tarihi boyunca böbrek fonksiyonlarındaki ani değişiklikler farklı isimlerle anılmıştır. On dokuzuncu yüzyılın başlarında "Ischuria Renalis" terimi kullanılmış olup "böbreklerin idrar tutması" anlamına geldiği bildirilmiştir. 1950'lerde akut böbrek yetmezliği terimi kullanılmıştır (19). Son yıllarda ise ABH kavramının benimsendiği rapor edilmiştir (20). Akut böbrek hasarının ilk tanımlaması olan RIFLE sınıflaması ilk olarak 2004 yılında yayınlanmıştır (21). RIFLE kısaltması "Risk", "Injury", "Failure", "Loss of kidney function", "End-stage renal disease" sınıflamalarının baş harflerinden oluşmaktadır. RIFLE sınıflamasında risk, hasar ve yetmezlik değerlendirilirken serum kreatinin veya tahmini glomerüler filtrasyon hızı ve idrar çıkışındaki değişiklikler ölçüt olarak kullanılmıştır. Yine RIFLE sınıflamasında son iki sınıf olan böbrek fonksiyon kaybı ve son dönem böbrek hastalığı ise renal replasman tedavisine bağımlılık sürecine göre belirlendiği rapor edilmiştir (3,21). RIFLE sınıflamasına göre serum kreatinin düzeyinde 1.5 katlık artış ya da GFR'de %25'ten daha fazla bir azalma ile birlikte 6 saat süre ile idrar miktarının saatte 0.5 ml/kg'dan az olması risk olarak değerlendirilmekte iken, serum kreatinin düzeyinde 2 katlık bir artış veya GFR'de

%50'den daha fazla bir azalma ile birlikte 12 saat süre ile idrar miktarının saatte 0.5 ml/kg'dan az olması hasar olarak değerlendirilmektedir. Serum kreatinin düzeyinde 3 katlık bir artış veya GFR'de %75'den daha fazla bir azalma ile birlikte 24 saat süre ile saatte idrar miktarının 0.3 ml/kg daha az olması veya 12 saat süre ile anüri tablosu yetmezlik olarak değerlendirilmektedir. En az 4 hafta süre ile diyaliz bağımlılığı böbrek fonksiyon kaybı olarak değerlendirilmekte iken en az 3 ay boyunca diyaliz bağımlılığı son dönem böbrek hastalığı olarak değerlendirilmektedir (3,19,21).

Akut böbrek hasarının primer sebepleri iskemi, hipoksi ve nefrotoksisitedir (2). Akut böbrek hasarı etiyolojik olarak; prerenal, postrenal ve renal akut böbrek hasarı olarak sınıflandırılabilir. Prerenal akut böbrek hasarı en sık görülen formudur ve temel sebebi renal kan akımında azalmadır. Vakaların %40-70'inde görüldüğü bildirilmiştir (22). Postrenal akut böbrek hasarı, üriner akımda akut obstrüksiyon ile karakterizedir. Üriner kanal obstrüksiyonu, intratübüler basıncı artırır ve böylece glomerüler filtrasyon hızı azalmaktadır (2). Postrenal akut böbrek hasarının vakaların %5'ini oluşturduğu bildirilmiştir (23).

İntrinsik akut böbrek hasarı, parankimal hasar ile karakterizedir. Vakaların %10-50'sinde görülmektedir (22). İntrinsik böbrek hasarının etiyolojisi göz önüne alındığında böbreğin dört majör yapısının hasarını düşünmek gerekmektedir. Bu dört yapı tübüller, glomerulus, interstisyum ve intrarenal kan damarlarıdır. Akut tübüller nekroz (ATN), tübüllerdeki hasardan kaynaklanan akut böbrek hasarını tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Akut tübüller nekrozun iskemik ve nefrotoksik olmak üzere iki önemli nedeni olduğu bildirilmiştir. İskemik ATN; renal perfüzyonda uzun süren azalmadan kaynaklanmaktadır. Nefrotoksik ATN; böbrekte toksik veya potansiyel toksik endojen (rabdomiyolizde miyogloblin gibi) ve ekzojen (aminoglikozidler gibi) bileşimlerin çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır. Glomerüler hasar, akut glomerülonefritin ciddi durumlarında meydana gelmektedir. İnterstisyel hasar, akut interstisyel nefritten kaynaklanmaktadır. Akut interstisyel nefrit ise çeşitli ilaçlardan dolayı alerjik reaksiyon veya enfeksiyondan dolayı gelişebilmektedir. Vasküler hasarda ise, intrarenal damarların hasarlanması söz konusudur ve böylece renal perfüzyon ve glomerüler filtrasyon hızı azalmaktadır (2).

Akut böbrek hasarı, gelişmekte olan ülkelerde artan morbidite ve mortaliteden sorumludur (22). ABH oluşma sıklığı klinik duruma göre farklılıklar gösterir. Hastaneye kabul edilen vakalarda kabulde %1, hastaneye yatırılarak izlenen hastalarda %2-5, kardiyopulmoner baypas sonrasında %4-15 sıklığında görüldüğü rapor edilmiştir (24). Kardiyopulmoner baypas uygulanmış çocuk hastalarla yapılmış prospektif bir çalışmanın verilerine göre, çocukların

yaklaşık olarak %28'inde ABH geliştiği bildirilmiştir (25). 312 kohort çalışmadan oluşan meta-analiz verilerine göre akut rahatsızlıkla hastanede yatan yetişkinlerin 1/5'inde, çocukların ise 1/3'ünde ABH geliştiği rapor edilmiştir (1,26). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada ise hastanede yatan hastalarda ABH oluşma oranının 1979 yılında %4.9 iken, 1996 yılında bu oranın %7.2'ye artış gösterdiği bildirilmiştir (1). Amerika Birleşik devletleri renal data sistemleri verilerine göre 2012 yılında sağlık sigortası olan hastalarda, ABH oranının %20 ile %80 arasında olduğu ve bu oranın yaşla beraber artış gösterdiğini rapor etmişlerdir (27). 2007 yılı Türk Nefroloji Derneği verilerine göre Türkiye'de ABH mortalite oranının %15.1 olduğu rapor edilmiştir (28). Günümüzde de ABH, kompleks cerrahi girişimlerde, travma sonrası ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda sıklıkla gelişebilen ve hayatı tehdit eden bir komplikasyon olmaya devam etmektedir (16).

Rabdomiyoliz

Rabdomiyoliz, travma veya travma dışı nedenlere bağlı olarak çizgili kasların hasarlanması sonucu hücre içi bileşimin sistemik dolaşıma geçmesi olarak tanımlanmaktadır (4). Rabdomiyolizin yaygın görülen nedenleri travma, yoğun egzersiz, kas hipoksisi, genetik defektler, enfeksiyonlar, vücut sıcaklık değişimleri, metabolik ve elektrolit bozukluklar, ilaç ve toksinler olarak ifade edilebilir. Ayrıca idiyopatik bir durumda söz konusu olabilmektedir. Özellikle alkol, yasa dışı uyuşturucular, lipid düşürücü ajanlar yaygın sebepler arasındadır (29). Rabdomiyoliz vakalarının %81'inden alkol ve uyuşturucu maddelerin sorumlu olduğu ve bu hastaların üçte birinde ABH geliştiği rapor edilmiştir (30).

Rabdomiyolizin eski ahit dönemlerinden bu yana bilindiği düşünülmektedir. Yahudiler göç sırasında seyahat ederken bıldırcın eti ile beslenmişlerdir. Bıldırcın diyetinde bulunan baldıranın ender bulunan elementlerden biri olduğu ve çok büyük miktarlarda bıldırcın tüketilmesinin yani baldıran tüketilmesinin rabdomiyolize yol açtığı bildirilmiştir. Rabdomiyoliz, mABH'nin bir nedeni olarak binlerce yıldır bilinmektedir fakat ilk defa 1941 yılında Bywaters ve Bealle tarafından ilk majör klinik belgenin sunulduğu rapor edilmiştir (7).

Rabdomiyolizde, kas hasarı ve nekrozundan dolayı sitoplazmik iyonize kalsiyum miktarında artış olduğu bilinmektedir. Temel mekanizma, miyosit membranının hasarlanması, intraselüler kalsiyumun artması ve enerji üretiminin bozulmasıyla açıklanmaktadır (31). Rabdomiyolizin etiyolojisi ne olursa olsun böbrek hasarı gelişmesine katkı sağlayan mekanizma benzer bir yol izlemektedir. Hücre zarının elektrokimyasal yükü $Na^+-K^+-ATPaz$ tarafından korunmaktadır ve böylece intraselüler sodyum konsantrasyonu yaklaşık olarak 10

mEq/l, potasyum konsantrasyonu ise yaklaşık olarak 150 mEq/l olarak korunmaktadır. Bu gradient aktif kalsiyum pompası (Ca^{+2} -ATPaz) ile birlikte kalsiyumun sarkoplazmik retikuluma ve mitokondriye girişini düzenlemektedir ve böylece intraselüler kalsiyum düzenlenmesine yol açmaktadır. Bu süreç, Adenozin trifosfat (ATP) bağımlıdır. Kas perfüzyonu azaldığı zaman, hücre içinde ATP tükenir ve bu pompa ve değiştiricilerinin düzensizleşmesiyle sonuçlanmaktadır. Sonuçta bu düzensizlik sitoplazmik sodyum ve sarkoplazmik kalsiyum konsantrasyonunda artışa yol açmaktadır. Bu aşırı hücre içi kalsiyum sürekli kas kasılması ve devam eden ATP tüketimi ve sonuçta miyofibriller, hücre iskeleti ve membran proteinlerinin yıkımına neden olur. Miyofibriller ağ bozulur ve böylece miyofibrillerin nekrozu veya rabdomiyoliz ile sonuçlanmaktadır. Daha sonra potasyum, fosfor, kreatin kinaz (CK), aldolaz, laktat dehidrogenaz (LDH), aspartat transaminaz (AST) ve miyoglobin gibi hücre içi katyonlar, anyonlar, enzimler ve proteinler sistemik dolaşıma salınmaktadır (7) Rabdomiyolizde, miyositlerden dolaşıma salınan miyoglobinin bir kısmı plazma globulinlerine bağlanır (7,32). Miyoglobinin yaklaşık olarak %50-85 kadarının plazma globulinlerine bağlandığı rapor edilmiştir (32). Bağlı olmayan miyoglobinin glomerüllerden serbestçe filtre olduğu ve ardından tübüler epitel hücrelerde metabolize olduğu bildirilmiştir (7). İskelet kası nekroz miktarı 100 gramdan daha fazla olduğu zaman dolaşımdaki miyoglobin konsantrasyonu plazma proteinlerinin bağlama kapasitesini aşmaktadır. Bu bağlı olmayan miyoglobinin glomerüllerden filtre edildiği ve idrarda miyoglobininüri oluşmasına neden olduğu rapor edilmiştir (7,32). Miyoglobinin plazma konsantrasyonu 1.5 mg/dl'yi aşınca böbrekler tarafından filtre edilmektedir. İdrar miyoglobin konsantrasyonu 100 mg/dl'yi aşınca çay rengi veya kahverengi idrar meydana gelmektedir (33,34).

Akut böbrek hasarı, rabdomiyolizin klinik bir komplikasyonudur ve bu hastalık grubunda mortalite oranının yaklaşık olarak %5 olduğu rapor edilmiştir (35). Rabdomiyolizde görülen ABH insidansı birçok çalışmada farklılık göstermektedir. Rabdomiyoliz sonucu görülen ABH insidansının %13-50 arasında görüldüğü rapor edilmiştir (29).

Miyolobinürik Akut Böbrek Hasarı

Miyoglobin, moleküler ağırlığı 17500 Da olan ve kasa kırmızı rengini veren bir proteindir (7,15). Kas kütlesi kuru ağırlığının %1-3'ünü oluşturmaktadır. Miyoglobinin görevi oksijen bağlamak ve düşük oksijen gerimi koşullarında çalışan kas hücrelerine oksijenin taşınması kolaylaştırmaktır (34). Miyoglobinin normal plazma konsantrasyonunun 0-0.003 mg/dl olup, yarılanma ömrünün 1-3 saat olduğu ve 6 saat içinde plazmadan temizlendiği rapor

edilmiştir (32). Böbreklerde glomerüler filtrattan reabsorbsiyona uğrayabildiği ve proksimal tübülde katabolize olduğu bildirilmiştir (15). Miyogloblin seviyeleri 15000 ng/ml’yi aşarsa bu durum özellikle ABH gelişimi ve hemodiyaliz ihtiyacı ile ilişkilendirilmektedir (34). Miyogloblinürük akut böbrek hasarı, travma veya travma dışı nedenlere bağlı olarak oluşan rabdomiyoliz sonucunda gelişen üremik bir sendrom olarak tanımlanmaktadır (6). Miyogloblin tarafından gelişen renal toksisitenin üç farklı mekanizması olduğu bildirilmiştir. Bunlar; renal vazokonstriksiyon, intratübüler kast oluşumu ve böbrek tübüler hücrelerine miyogloblinin doğrudan toksik etki göstermesidir (15).

1. Renal vazokonstriksiyon: Renal vazokonstriksiyon miyogloblinürük ABH’nin karakteristik bir özelliğidir. Bu süreç birkaç mekanizma ile açıklanabilmektedir. Birincisi “crush” hasarında olduğu gibi şiddetli kas nekrozu üçüncü boşluklarda sıvı birikimine neden olmaktadır. İntravasküler hipovolemi renin-anjiyotensin sistem, vazopressin ve sempatik sinir sisteminin aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır. Bu durumun vazokonstriksiyonu şiddetlendirdiği bildirilmiştir. İkincisi, şiddetli kas hasarının endotelin-1, tromboksan A2, TNF- α gibi endotoksinlerin üretilmesine ve endotoksin sitokin kaskadının aktivasyonu yoluyla renal vazokonstriksiyona neden olduğu bildirilmiştir. Üçüncü mekanizma ise; miyogloblin karakteristik bir NO süpürücü etki göstermektedir. Miyogloblinemi durumunda, böbrek hipoperfüzyonu şiddetlenmektedir. Bu durumda plazma miyogloblin konsantrasyonunun artmasının böbrek perfüzyonunu azalttığı bildirilmiştir (33).

2. İntratübüler kast oluşumu: Miyogloblinin parçalanması sonucu açığa çıkan hem distal tübülde kast oluşumuna ve tübüler tıkanıklığa neden olmaktadır. Kas hasarı sonucunda oluşan asidik idrar, miyogloblin ve distal tübüldeki Tamm Horsfall proteinleri tübüler kast oluşumunda önemli rol oynamaktadırlar. Miyogloblin asidik idrar varlığında özellikle pH 5’te distal tübüllerdeki Tamm Horsfall proteinleri ile bağlanması sonucu çökelmeye sebep olmaktadır. Deneysel çalışmalarda idrarın alkalileştirilmesinin kast oluşumunu azalttığı gösterilmiştir. Miyogloblinin lümen içi konsantrasyonun artması kast oluşumu ihtimalini daha fazla arttırmaktadır (33,36).

3. Böbrek tübüler hücrelerine miyogloblinin doğrudan toksik etki göstermesi: Hem proteinleri ve miyogloblin proksimal tübüllerde doğrudan sitotoksik etkiye sahiptir. Hem proteinlerinin dehidratasyon durumunda renal vazokonstriksiyonu şiddetlendirerek, iskemik böbrek hasarını arttırabileceği bildirilmiştir (33). Glomerüler fitrata geçen miyogloblin proksimal tübülde endositoz yoluyla geri emilir ve miyogloblin yapısında bulunan porfirin halkasının metabolize olması sonucu serbest demir iyonu açığa çıkmaktadır. Rabdomiyolizle

indüklenen ABH'de fazla miktarda serbest demir oluştuğu bildirilmiştir. Oluşan bu fazla demir iyonunun da serbest radikal oluşumuna ve tübüler hasara neden olduğu ve ATP depolarının tükenmesine böylece tübüler nekroz gelişimine katkı sağladığı rapor edilmiştir (6).

Ayrıca mABH'de şiddetli "crush" hasarı ve rabdomiyolizin dissemine intravasküler koagülasyonu tetiklediği ve böbrek içi mikro trombus oluşumuna ve iskemik hasarın şiddetlenmesine neden olduğu rapor edilmiştir (33). Majör depremleri takiben meydana gelen ölümlerin çoğu büyük travmalardan veya asfeksilerden kaynaklandığı bilinmektedir. Kurtulan çoğu mağdurda "crush" sendromu sonucu mABH'den sonra ölüm geliştiği rapor edilmiştir. 1999 yılında Türkiye'de yaşanan Marmara depreminde, 17480 kişinin öldüğü ve 639 kişide "Crush" sendromu geliştiği ve bunların 477'sinin ise diyaliz tedavisi gördüğü rapor edilmiştir. 2008 yılında Çin (Sichuan)'de yaşanan depremde ise 229 "Crush" sendromlu hastadan 113'ünün diyaliz tedavisi gördüğü rapor edilmiştir. 2011 yılında Van'da yaşanan depremlerde 644 kişinin öldüğü, yaklaşık 6000 kişinin de yaralandığı ve net bir bilgi olmamakla birlikte "Crush" sendromlu hasta sayısının 80-90 arasında olduğu ve bunlarında 25-35'ine diyaliz uygulandığı rapor edilmiştir. Bugün yaklaşık olarak şehirlerde yaşayan 400 milyon insanın depreme yatkın alanlarda ve bunların çoğunun tropikal kasırga olasılığının yüksek olduğu alanlarda yaşadığı ve 2050 yılına kadar da bu sayıların iki katına çıkabileceği bildirilmiştir (4,37,38).

OKSİDATİF STRES

Serbest radikaller, diğer adıyla reaktif oksijen türleri (ROT) reaktif karaktere sahip, son yörüngesinde bir ya da daha çok eşlenmemiş elektron bulunduran, karasız yapıda yüksek enerjili atom ya da moleküller olarak tanımlanmaktadır. (39-41). Homeostatik koşullarda, oluşan serbest radikal miktarı ile süpürücüleri arasında bir denge durumunun olduğu bildirilmiştir. Serbest radikaller yalnızca fazla miktarda bulduklarında yıkıcıdır. Normal koşullarda, serbest radikallerin varlığı vücudun düzgün işleyişi için kaçınılmazdır ve üretimi enzimatik ve enzimatik olmayan sistemlerin sıkı kontrolü altındadır. Serbest radikaller, hücre çoğalması, proliferasyon, apoptoz ve farklılaşma gibi süreçlerde yer alırlar (42). Hücre homeostazındaki bozulmalar ve oksidasyon reaksiyonu yönündeki pro-oksidan / antioksidan dengesindeki kaymalar oksidatif stres oluşturduğu bilinmektedir (42). Oksidatif stres, ROT ve reaktif nitrojen türlerinin (RNT) oluşumu ile organizmanın antioksidan koruma sistemleri tarafından oluşturulan karşı koyma kapasitesi arasındaki dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır (43,44). Süperoksit anyon radikali, hidroksil, alkoksil, lipid peroksil

radikalleri ROT olarak bilinirken, nitrik oksit ve peroksinitrit RNT olarak bilinmektedirler (44). Oksidatif stresin 3 temel etkisi olduğu bildirilmiştir. Bunlar lipid peroksidasyonu, protein yıkımı ve deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı olduğu rapor edilmiştir (42).

Lipid peroksidasyonu, en yaygın olarak bilinen biyolojik serbest radikal zinciri reaksiyonudur. Peroksidasyon, ROT tarafından başlatılmaz. Ancak ROT'nin varlığının peroksidasyon sürecini şiddetlendirdiği rapor edilmiştir. Tüm serbest radikal zincir reaksiyonları gibi peroksidasyon aşamalarında 3 evrede gerçekleşmektedir. Birinci aşama başlangıç aşamasıdır. Başlangıç aşamasında yağ asidi radikali üretilmektedir. Canlı hücrelerdeki başlatıcılar; hidroksil (HO ·), peroksi (LOO ·), alkoksi (LO ·) ve alkil (L ·) radikallerinin yanı sıra ozon, kükürt dioksit ve azot dioksittir. İkinci aşama uzama aşamasıdır. Uzama aşamasında, uçucu yağ asidi radikalleri kolaylıkla moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksitleri oluştururlar. Bu peroksitler düşük kararlılık seviyesine sahiptir ve bu nedenle daha fazla yağ asidi molekülü ile reaksiyona girerek daha fazla radikal oluşturabilirler. Periyodik bir süreçtir. Üçüncü aşama bitiş aşamasıdır. Serbest radikallerin konsantrasyonu yeterince yüksek olduğunda, iki radikal arasındaki çarpışma ihtimali önemli düzeyde artar. İki radikalın çarpışmasıyla süreç sona ermektedir. Yağ asidi dimerleri, hidroksi asitler ve oksoasitler bitiş reaksiyonu ürünleridir. Lipid peroksidasyonu ürünleri β-eliminasyon reaksiyonu gibi malondialdehit (MDA) veya 4-hidroksinonenal üreten farklı reaksiyonlara maruz kalabilirler (42). Bir tiyobarbitirik asit reaktifi olarak bilinen MDA, lipid peroksitlerin en iyi bilinen aldehit formudur (40). MDA'nın hücre zarında iyon geçirgenliklerinde ve enzim aktivitelerinde değişikliğe yol açtığı ve intrinsek membran özelliklerini değiştirmek gibi olumsuz etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (40,45). MDA, dokulardaki lipit hasarının bir belirteci olarak kullanılmanın yanı sıra, hücresel hasarın derecesini ölçmek için de kullanılmaktadır (40,46). Lipid peroksidasyonun hücre membran aktivitesinde azalma, kalsiyum pompasını inhibe etme ve solunum zincirindeki elektron taşıma ile ATP üretimi arasındaki ilişkinin zayıflamasını da içeren birçok etkisi olduğu rapor edilmiştir (42).

Oksidatif stresin bir diğer etkisi olan protein yıkımı, birçok savunma mekanizmasına rağmen aerobik hücresel metabolizmanın doğal bir etkisidir ve biyomoleküllerin oksidasyonuna yol açmaktadır. Oksidatif stres olduğu zaman proteinlerdeki tiyol grupları oksidasyon reaksiyonlarına girmektedir (42). Proteinlerde oluşan oksidatif değişiklikler, hücre iskeletini oluşturan enzim ve proteinlerin yapısında fonksiyonel değişikliğe neden olabilmektedir (46). Okside protein ürünlerinin birikimi, hücrede fonksiyon bozukluğuna neden

olabileceği gibi hücre ölümüne bile yol açacağı rapor edilmiştir (42). Birçok hastalığın patogenezinde protein modifikasyonlarının rolü olduğu bilinmektedir (46).

Serbest radikaller tarafından oluşturulan DNA hasarı, protein ve lipidler tarafından oluşturulan hasardan çok daha az sıklıkta görülmektedir. DNA hasarının sebebi iki teoriye dayandırılmaktadır. Birinci teoriye göre; DNA hasarı spesifik bir bölgeye özgü Fenton reaksiyonu sonucudur. Guanin'in dört DNA bazı arasında en kolay okside olan bazı olduğu bildirilmiştir (42,47). İkinci teoriye göre; Oksidatif stresin etkisi ile, kalsiyum iyonlarının hücre içi konsantrasyonunu artması DNA'yı sindiren nükleazları aktifleştirmesidir (42). Serbest radikaller tarafından oluşturulan DNA hasarı başta karsinogenezis olmak üzere birçok hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır (46).

Akut veya kronik böbrek hasarlarının tüm formlarında tür gözetmeksizin hasar veya hastalık sürecinde ROT ve RNT'de artış olduğu rapor edilmiştir (48). Rabdomiyolizle indüklenen ABH'de oksidatif hasar sürecinde miyoglobinin rolü iki hipotezle açıklanmaktadır. Birinci hipoteze göre, miyoglobinden serbest demir salınımının Fenton reaksiyonlarını katalizlediği rapor edilmiştir. İkinci hipoteze göre ise, miyoglobin-redoks siklusunun lipid peroksidasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (9). Hidroksil radikali, hidroksit iyon formunun nötr hali olup yüksek reaktiviteye sahip bir radikaldir. İn vivo yarılanma ömrünün yaklaşık olarak 10^{-9} sn olduğu bildirilmiştir (49). Fe⁺² ve Cu⁺ gibi geçiş elementlerinin varlığında hidrojen peroksit indirgenerek hidroksil radikaline dönüştürülür. Bu reaksiyon fenton reaksiyonu olarak adlandırılmaktadır (41). Birçok çalışma ile miyoglobinin böbrekte parçalanması sonucu salınan serbest demirin fenton reaksiyonlarını katalizlemesi yoluyla oksidatif türlerin oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir (9). Bu oksidatif potansiyele etkin hücre içi antioksidan moleküller tarafından karşı koyulmaktadır. Fakat miyoglobinin hücre salınımı ROT'nin kontrolsüz sızıntısına neden olmakta ve serbest radikaller hücre hasara neden olmaktadır (29).

ANTIOKSIDANLAR

Biyolojik antioksidan kavramı, oksitlenebilir substrattan daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu, bu substratın oksidasyonunu önleyen ya da geciktirebilen herhangi bir madde olarak tanımlanmaktadır (44,50). Literatürde tartışmalı olarak farklı antioksidan sınıflandırma kriterleri mevcuttur. Antioksidanların enzimatik ve enzimatik olmayan, önleyici veya onarım sistemleri, endojen ve eksojen, primer ve sekonder, hidrosoluble ve liposoluble, doğal veya sentetik olanlar gibi farklı sınıflandırmaları mevcuttur (44).

Antioksidan fonksiyon aracılığıyla; oksidatif stres, DNA mutasyonları, malign mutasyonlar ve diğer hücre hasar parametrelerinde azalma meydana gelmektedir. Epidemiyolojik çalışmalarla, antioksidanların reaktif oksijen türlerine etkileri olduğu ve kanser ve diğer dejeneratif hastalıkların insidansında azalmaya neden olduğu kanıtlanmıştır (44,50). Oksidatif hasara karşı geliştirilen, ilk antioksidan savunma sistemi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyen ve mevcut radikalleri bloke eden türlerdir (44). Antioksidan onarım sistemleri, okside olmuş hasarlı nükleik asitleri spesifik enzimlerle onarıırken, okside proteinleri proteolitik sistemler ile lipidleri ise fosfolipazlar, peroksidazlar ve açıl transferazlar aracılığıyla onardığı bildirilmiştir (44,51,52). Hücrenin redoks homeostazı endojen antioksidan savunma sistemi tarafından sağlanmaktadır. Bu sistemde süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi endojen antioksidan enzimler bulunurken, glutatyon, proteinler (ferritin, transferrin, serüloplazmin, albümin) gibi enzimatik olmayan bileşenlerde yer almaktadır. Ayrıca ürik asit, koenzim Q ve lipoik asit gibi düşük moleküler ağırlıklı süpürücülerde bulunmaktadır (44,52).

Antioksidanlar, oksidatif radikal sürecinin farklı basamaklarında etki gösterebilirler. Bu etkilerden bazılarını sıralayacak olursak; antioksidanlar moleküler oksijeni tüketerek ya da yerel konsantrasyonlarını azaltarak, prooksidatif metal iyonlarını yok ederek, süperoksit anyon radikali veya hidrojen peroksit gibi temel reaktif oksijen türlerini ortamdaki uzaklaştırarak ya da daha zayıf moleküllere dönüşümünü sağlayarak, hidroksil, alkoksil, peroksil gibi zincir başlatıcı radikallerin radikal sekans zincirini kırarak veya singlet oksijeni inhibe ederek ortamdaki uzaklaştırmak gibi işlevlere sahip olduğu rapor edilmiştir (44,46). Radikal türlerinin temizlenmesine neden olan zincir kırıcı antioksidanlara primer antioksidanlar denilmektedir. Sekonder antioksidanlar; singlet oksijen söndürücüler, radikal olmayan türler üreten peroksit ayrıştırıcılar, metal şelatörler, oksidatif enzim inhibitörleri, UV radyasyon emicilerdir. Sekonder antioksidanlar primer antioksidanlarla birleşerek sinerjik etkiye neden olduğu bildirilmiştir (44).

GLUTATYON

Glutatyon (GSH), reaktif oksijen ve nitrojen türlerine karşı korumayı da içeren birçok biyolojik role sahip bir tripeptiddir (53). Sistein, glutamat ve glisin öncü amino asitlerinden sentezlendiği bildirilmiştir (54). GSH, γ -glutamil sistein sentetaz ve GSH sentetaz enzimleri aracılığıyla iki aşamada sentezlenmektedir (55).

Glutayonun tiyol-indirgenmiş (GSH) ve disülfid-oksitlenmiş (GSSG) olmak üzere iki formu vardır. İndirgenmiş form baskın form olup, çoğu hücrede milimolar konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Okside glutatyon, indirgenmiş glutatyonun %1'inden daha az miktarda bulunmaktadır. Hücresel glutatyonun yaklaşık olarak %90'nın sitozolde , %10 kadarında mitokondride bulunduğu ve küçük bir yüzdesinin de endoplazmik retikulumda bulunduğu bildirilmiştir (56). GSH salınımı eritrositler hariç tüm hücrelerde gözlemlenmekle beraber, homeostaziste önemli bir faktördür (55). Glutatyonun en önemli işlevi, elektrofilik doğanın endojen ve egzogen toksinlerinin detoksifikasyonu sağlamak ve reaktif oksijen türleri ile reaktif nitrojen türlerine karşı koruma sağlamaktır. Diğer işlevlerini sıralayacak olursak; proteinlerin ve diğer moleküllerin temel tiyol statüsünü korumak, hücrede ve organlar arası transfer için sistein rezervlerinin depolanmasını sağlamak, östrojen, lökotrien ve prostaglandinlerin metabolizmasına katılmak, ribonükleotidlerin indirgenmesiyle deoksiribonükleotidlere katılmak, proteinlerde demir- kükürt kümelerinin matürasyonuna katılmak, bakır ve demir transferi gibi birçok fonksiyonu olduğu bilinmektedir (53). Okside ve redükte glutatyon formları hücresel redoks durumunu korumak ve düzenlemek için aktif redoks bileşiklerle (örneğin; NAD(P)H) birlikte hareket ederler (53). Tüm aerobik organizmalar mitokondriyal solunumdan belli düzeyde fizyolojik oksidatif strese maruz kalırlar. Süper oksit ve hidrojen peroksit gibi oluşan ara ürünler lipid peroksidasyonuna ve hücresel hasara yol açabilecek toksik oksijen radikallerin üretimine yol açabilmektedir. Bunu önlemek için endojen olarak üretilen hidrojen peroksit glutatyon peroksidaz varlığında GSH tarafından indirgenmektedir (56).

Glutatyon peroksidaz, hücrede esas olarak sitozol ve mitokondride bulunmaktadır (40). Glutatyon peroksidazlar, reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin inaktivasyonunu katalizler. Bu enzimler okside glutatyon (GSSG) formu oluşturmak için iki GSH molekülü arasında disülfid bağ oluşturmaktadır. GSH redüktaz daha sonra bir GSSG molekülünden iki molekül GSH oluşumunu katalize eder (54). Glutatyon peroksidazlar, hidroperoksitleri suya ya da uygun alkollere katalizlemektedirler. Bu süreçte redükte glutatyon önemli bir elektron vericisi olarak işlev gördüğü bildirilmiştir (44).

NİTRİK OKSİT

1987 yılında endotel kaynaklı gevşetici faktörün nitrik oksit veya ona benzer bir madde olduğu açıklandı. 1992 yılında Science dergisinin editörleri 1992 yılını nitrik oksit yılı olarak ilan etmişlerdir (57). 1998 yılı Ekim ayında kardiyovasküler sistemde anahtar bir molekül olarak nitrik oksit keşifleri ile Robert Furchgott, Louis Ignarro ve Ferid Murad, Fizyoloji ve

Tıp Nobel ödülünü almışlardır (58). Nitrik oksit, bir serbest radikaldir ve ayrıca çok sayıda fizyolojik ve patolojik süreçleri düzenleyen biyolojik bir sinyal molekülüdür (59).

Nitrik oksit, nitrik oksit sentaz ailesi tarafından L-arginin aminoasitinden sentezlenmektedir. Nitrik oksit sentaz ailesi, endotelial nitrik oksit (eNOS), indüklenbilir nitrik oksit (iNOS) ve nöronal nitrik oksitten (nNOS) oluşmaktadır. Temel olarak, nöronal nitrik oksitin nöral dokuda eksprese edildiği, iNOS'un aktif makrofajlarda upregüle edildiği ve eNOS'un endotelde bol miktarda bulunduğu ve vasküler tonusu düzenlediği bilinmektedir. Gerçekte nitrik oksit komponent sistemi fizyolojik ve patolojik koşullarda tüm doku ve organ sistemleri tarafından eksprese edilmektedir (60). Böbrekte NO'nun net etkisinin natriürez ve diüzezi desteklemesi olduğu bildirilmiştir (61). Nitrik oksit, renal kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızını artırarak ve/veya nefron boyunca su ve tuz geri emilimini inhibe ederek natriürez ve diüzeze neden olabilmektedir. Henle kulbunun kalın çıkan kolunda her üç nitrik oksit sentazda eksprese edilmesine rağmen, normal fizyolojik koşullarda en önemli NO üretimi nitrik oksit sentaz tip 3 (NOS3; endotelial nitrik oksit sentaz) tarafından üretilendir. Kalın çıkan kolda nitrik oksit üretimi çeşitli faktörler tarafından uyarılmaktadır. Bu faktörlerin, Endotelin B reseptörleri aracılığıyla endotelin-1 aktivasyonu, angiotensin II reseptör tip 2 aracılığıyla anjiyotensin II aktivasyonu ve $\alpha 2$ reseptörleri aracılığıyla adrenerjik agonistlerin aktivasyonunu içerdiği bildirilmiştir (62). Akut böbrek hasarının bazı formlarına eşlik ederek gelişen endotelial hücre disfonksiyonunun ayırıcı özelliklerinden biri eNOS inhibisyonudur (63).

Yapılan çalışmalar ile kronik böbrek yetmezliği oluşturulan sıçanlarda eNOS ve iNOS'un vasküler ve renal ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (60). Nitrik oksitin biyoyararlanımı üretim ve yıkımı arasındaki denge tarafından belirlenir (60). Böbrek iskemisi reperfüzyon hasarından sonra NO'nun böbrek dokusunda vücuda zarar verecek miktarda üretildiği ve NO üretimindeki bu artışın NO üreten iNOS enzimidaki artıştan kaynaklandığı rapor edilmiştir (64).

Nitrik oksitin renal hasar gelişimine katkı sağlayan olası oksitadatif etkileri; Düşük nM seviyelerinde NO çözünebilir guanilat siklaz ve sitokrom c oksidaz'a bağlanarak cGMP üretimi ve mitokondriyal solunumu düzenler. NO seviyeleri arttığı zaman, potansiyel olarak demir bağlanma bölgeleri gibi çeşitli bağlanma bölgeleri ile etkileşime girer veya nitrosat tiyolleri gibi RNT üretirler. NO seviyeleri, süperoksit distumaz enzimlerinin lokal konsantrasyonları düzeylerine yükseldiği zaman süper oksitin temizlenmesi için süperoksit dismutaz enzimi ile yarışır ve bu reaksiyon sonucunda peroksinitrit oluşur. NO hemoglobin ve diğer oluşum

reaksiyonları sonucu ortamdan uzaklaşırken, aynı zamanda nitrit üretmek için ayrıştığı bildirilmiştir (48). NO, özellikle renal medullada renal kan akımının korunmasında önemlidir. Miyogloblin infüzyonunun renal kan akımını azalttığı ve bunun miyogloblinin NO temizleyici özelliğinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Bu nedenle NO donörlerinin ABH için koruyucu özellik gösterebileceği NO sentaz inhibitörlerinin ise böbrek hasarını güçlendireceği rapor edilmiştir (36). İndüklenebilir NOS kaynaklı nitrik oksit in gliserol ile indüklenen ABH'de böbrek tübüllerinde hasara neden olduğu rapor edilmiştir (65). Aşırı NO'nun süperoksitle reaksiyona girdiği ve peroksinitrit oluşturduğu ve hidroksil radikalinin bir kaynağı olarak varsayılabileceği böbrek tübül hasarına neden olduğu rapor edilmiştir (65).

Birçok çalışmada nitrik oksit in proksimal tübülde sodyum ve sıvı geri emilimini azalttığı rapor edilmiştir. NO'nun proksimal tübülde sodyum geri emilimi üzerine inhibe edici etkisi NHE3 aktivitesindeki azalmaya bağlı olduğu düşünülmektedir (66).

AKUT BÖBREK HASARINDA KULLANILAN BİYOBELİRTEÇLER

Günümüzde akut böbrek hasarını tespit etmek için serum kreatinin ve idrar atılımı standart tanılama araçlarıdır (67). Ancak her ikisi de böbrek fonksiyon göstergeleri olmakla birlikte, böbrek hasarı göstergeleri değildir (67). Serum kreatinin düzeyleri, böbrek fonksiyonlarındaki akut değişimler sırasında özellikle de birkaç nedenden dolayı güvenilir bir göstergedir. Bu nedenlerden biri, böbrek fonksiyonlarının yaklaşık %50'si kaybedilene kadar serum kreatinin konsantrasyonları değişmeyebilir. Yine serum kreatinin, kararlı bir hal alması birkaç gün sürebileceği için tam olarak böbrek fonksiyonunu yansıtmaz. Son olarak serum kreatinin düzeyleri yaş, cinsiyet, ırk, kas metabolizması, intravasküler hacim, ilaç ve beslenme gibi birçok böbrek dışı faktörlerden etkilenir. Tüm bu nedenlerden dolayı ABH tanısında önemli gecikmeler söz konusudur (68).

Literatürde akut böbrek hasarını gösteren farklı biyobelirteçler bulunmaktadır. Bunlardan bazıları; böbrek hasar molekülü-1 (KIM-1), Nötrofil jelatinazla ilişkili lipokalin (NGAL), karaciğer tipi yağ asidi-bağlayıcı protein (L-FABP), interlökin-18 (IL-18), kalprotektin, idrar anjiyotensinojen (AGT), sistatin C ve idrar mikroRNA'sıdır (67, 69).

Böbrek hasar molekülü-1, 38.7 kDa ağırlığında tip 1 transmembran glikoproteinidir (67). KIM-1'in böbrekte ve karaciğerde eksprese edildiği bildirilmiştir (70). Bu protein HAVCR1 geni tarafından kodlanmaktadır. KIM-1, TIM-1 ve HAVCR1 olarak da anılmaktadır. KIM-1 epiteliyal ve lenfoid/miyeloid hücrelerdeki bir hücre yüzey reseptörüdür. Fosfatidilserine bağlanan KIM-1 apoptotik hücrelerin fagositozuna izin verir (71). KIM-1'in

özellikle insan ve kemirgenlerde başlıca proksimal tübülün S3 segmentinde reseptör sayısının arttığı bildirilmiştir (67). KIM-1 ekspresyonu renal fibrozis ve inflamasyon ile ilişkilidir (70). Üriner KIM-1 seviyesi IgA nefropatili hastalarda yükseldiği ve bu durumun proteinüri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (70). Birçok faktör KIM-1 protein ekspresyonuyla sonuçlanan tübüler epitel hücre hasarı başlatabilir. Tübüler KIM-1 ekspresyonu tübülointerstisyel hasar ve inflamasyon ile ilişkilidir. Akut böbrek hasarında, deneysel böbrek iskemisi reperfüzyon hasarından 3 saat sonra KIM-1 gen ve protein ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (72).

NGAL; Lipokalinler ailesine ait 25 kDa'lık bir proteindir. Siderokalin, lipokalin 2, onkogen 24p isimleriyle de anılmaktadır. İnsanlarda NGAL'in, 25-kDa monomer, 45-kDa homodimer ve 135-kDa heterodimer yapıda olmak üzere üç farklı formdan oluştuğu bildirilmiştir. NGAL, uterus, prostat, tükrük bezi, akciğer, trake, mide, kolon ve böbrek gibi çeşitli hücre tiplerinde sabit düşük seviyelerde eksprese edilmektedir (67). Hasarlı böbrekte henle kulpunun kalın çıkan kolu ve toplayıcı kanalların interkale hücreleri primer olarak NGAL üreten bölgelerdir. Akut böbrek hasarında filtre edilen NGAL'in tübüler geri emilimi azalır ve bu durum NGAL'in üriner konsantrasyonunda artışına yol açtığı bildirilmiştir (73). Serum kreatinin düzeyi böbrek hasarından 24-48 saat sonra yükselirken, NGAL'in böbrek hasarından hemen 2 saat sonra yükseldiği bildirilmiştir (74).

Karaciğer tipi yağ asidi-bağlayıcı protein (L-FABP), proksimal epitel hücreler tarafından eksprese edilmektedir. Peritübüler kapiller kan akımında azalmanın neden olduğu hipoksiye yanıt olarak hızla idrara geçtiği rapor edilmiştir (75,76). L-FABP'nin sadece karaciğerde değil aynı zamanda mide, bağırsak, akciğer ve böbreklerde de eksprese edildiği rapor edilmiştir (67).

İnterlökin-18, pro-inflamatuvar bir sitokin olup, proksimal tübül epitel hücrelerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (69,75). IL-18, monosit, makrofaj, proksimal tübül epitel hücreleri, toplayıcı kanalların interkale hücreleri gibi birçok hücre tarafından inaktif prekürsör olarak sentezlenmektedir. IL-18 seviyelerinin birçok endojen inflamatuvar süreçte arttığı bildirilmiştir. Birçok çalışma ile IL-18'in akut böbrek hasarının bir mediyatörü ve belirteci olduğu rapor edilmiştir. İskemik hasardan yaklaşık 6 saat sonra, ABH teşhisinden 24-48 saat önce, IL-18 seviyelerinin artış gösterdiği ve yaklaşık 12 saat sonra normal seviyesinin 25 katına çıkarak zirve değerine ulaştığı bildirilmiştir (67,75).

Kalprotektin, S100A8 (10,835 Da) ve S100A9 (13,242 Da) olmak üzere iki monomerden oluşan 24 kDa'lık bir heterodimerdir. Başlangıçta, nötrofil granülosit sitoplazmasında, antimikrobiyal bir protein olarak tanımlanmıştır. Akut böbrek hasarı

modelinde tek taraflı üreteral tıkanmaya yanıt olarak renal toplayıcı kanalın epitel hücrelerinde S100A8 ve S100A9'un üretildiği rapor edilmiştir (67).

Sistatin C, 13-kDa glikozillenmiş bir protein olup glomerüllerden serbestçe filtre olup tübüllerde katabolize olduğu bildirilmiştir (69). Azalan glomerüler filtrasyonu değerlendirmek için kullanıldığı bildirilmiştir (74).

Anjiyotensinojen 453 amino asit içeren uzun bir proteindir. Renin tarafından anjiyotensin I'ye dönüşmektedir. Anjiyotensin I'de anjiyotensin konverting enzim aracılığıyla Anjiyotensin II'ye dönüşür. Anjiyotensin II güçlü biyolojik etkilere sahiptir. Yapılan çalışmalarda akut dekompanse kalp yetmezliği olan hastalarda, ABH gelişiminde idrar AGT artışının en umut verici biyobelirteçlerden biri olduğu rapor edilmiştir (67,77,78). İntrarenal AGT, lokal renin-anjiyotensin sisteminin temel bir substratıdır. Temelde proksimal tübül hücrelerinde oluşur ve tübül lümenine sekrete edilir. Yapılan hayvan deneyleri ve klinik çalışmalarla, idrar AGT seviyelerinin intrarenal AGT ve Anjiyotensin II seviyeleri ile korelasyon gösterdiği ve intrarenal renin anjiyotensin sistem aktivitesinin bir indikatörü olduğu rapor edilmiştir (78).

İdrar mikro RNA, akut böbrek hasarında 18 ile 22 nükleotid içeren endojen ve kodlanmayan RNA moleküllerinin mikro RNA düzeylerinin değerlendirilmesini içerir (67,79). Bu kısa RNA iplikleri protein translasyonunu önlenmesiyle gen ekspresyonunda yer alır. Literatürde ABH'nin farklı modellerinde idrar mikro RNA seviyesinin artış gösterdiği rapor edilmiştir (67,79,80).

RELAKSİN

Relaksin, 1920'li yıllarda Frederick L. Hisaw tarafından keşfedilmiş, 6 kDa ağırlığında, yapısal olarak insülin ve insülin benzeri büyüme faktörlerine benzeyen peptid yapıda bir hormondur (13,81,82).

Relaksin hormonu, ilk zamanlar yapısal benzerliğinden dolayı insülin süperfamilyasına dâhil edilirken, son zamanlarda farklı bir hormon ailesi olduğu ve relaksin peptid ailesi olarak ifade edilmiştir. İnsanlarda relaksin peptid ailesinin 3 relaksin izoformundan ve 4 insülin benzeri peptidten oluştuğu bilinmektedir (83). İnsanlarda relaksin peptid ailesi relaksin 1 (H1), relaksin 2 (H2), relaksin 3 (H3) ve insülin benzeri peptidler olarak ifade edilen INSL3, İNSL4, İNSL5, İNSL6'dan oluşmaktadır. İnsanlarda relaksin 2'nin majör olarak bulunduğu bildirilmiştir. Relaksin peptid ailesinin (RXFP), reseptör 1 (RXFP1), reseptör 2 (RXFP2), reseptör 3 (RXFP3) ve reseptör 4 (RXFP4) olmak üzere 4 reseptörü vardır. İnsanlarda RXFP1

ekspresyonu beyin, böbrek, testis, plasenta, uterus, ovaryum, böbrek üstü bezleri, prostat, deri, karaciğer, akciğer ve kalpte saptanmıştır. Kemirgenlerde ise böbrek, kalp, arter, beyin, hipofiz, deri, akciğer, ince bağırsak, kolon ve adrenal bezlerde tanımlanmıştır. Böbrekte RXFP1 mRNA'sının hem insanlarda hem de kemirgenlerde tanımlandığı bildirilmiştir. Relaksin, RXFP1 ve RXFP2'nin her ikisine de bağlanabilmektedir ancak baskın olarak RXFP1'e bağlandığı bildirilmiştir. RXFP1 reseptörünün böbrekte immünohistokimyasal olarak proksimal tübülde, iç medullar toplayıcı kanallarda ve mezengiyal hücrelerde bulunduğu rapor edilmiştir (13). Kemirgenlerde relaksin ve relaksin 3 geninin immünohistokimyasal olarak, lokal böbrek ekspresyonunun böbreğin korteks ve medullasında, kalbin atriyum ve ventriküllerinde tanımlandığı bildirilmiştir. Kemirgenlerde, insan rekombinant relaksin, biyolojik olarak aktiftir ve bu birçok in vivo ve in vitro çalışmaların temelini oluşturmaktadır (84).

Relaksin hormonunun gebelik boyunca domuzlarda, sıçanlarda, farelerde ve insanlarda korpus luteumdan üretildiği ve salgılandığı bildirilmiştir. Erkeklerde relaksinın üreme kanalında üretildiği rapor edilmiştir (13). Relaksin, gebeliğin ilk dönemlerinde maternal damarlara doğrudan etkisi yoluyla renal ve sistemik hemodinamik adaptasyonlara esas aracılık eden hormon olarak bilinmektedir. Relaksin geni knockout farelerde yapılan bir çalışmada endojen relaksinın sadece bir gebelik hormonu olmadığı erkek ve gebe olmayan dişilerde kardiyovasküler sistemi de içeren çok sayıda organda önemli fonksiyonlara sahip olduğu rapor edilmiştir. Serelaksin (rekombinant human relaksin 2) ile uzun süreli tedavinin sistemik vasküler dirençte azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (85).

Relaksin hormonunun, anti-inflamatuvar, anjiyojenik, anti-iskemik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Relaksinın gebelik sürecinde kardiyak outputta %20 artış, sistemik vasküler dirençte %30 azalma, global arteriyal kompliansta %30 artış ve renal kan akımında %45 artışı da içeren çeşitli adaptasyonlarda rolü olduğu bildirilmiştir (14). Böbrekte relaksin önemli bir vazodilatatördür ve bu etkisini büyük oranda nitrik oksit üretimini arttırmasıyla gerçekleştirdiği düşünülmektedir (13). Relaksin aktivasyonu, böbrek tübüllerinin yanı sıra sistemik ve renal damar siteminde lokalize olan aynı kökten gelen reseptörüne bağlanmasıyla başlar. Anatomik lokalizasyona göre relaksin reseptörüne en yakın endotelin yolunun bileşenleridir ve iki endojen sistem ile ilişkilendirilir. Birinci sisteme göre relaksinın reseptörüne bağlanmasının, endotelde Endotelin-B reseptör aktivasyonuna neden olduğu ve vasküler tonus dengesinin vazodilatasyona doğru yön değiştirdiği, ikinci sisteme göre sistematik olarak relaksinın doğrudan endotel hücrelerinde Endotelin-B reseptör

ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir. Her iki yolunda lokal nitrik oksit üretiminde artışa neden olduğu rapor edilmiştir. Ancak bu durum netlik kazanmamıştır (14).

Relaksinin, böbrek iskemi reperfüzyon hasarı, sisplatinin oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı ve renal fibrosise karşı koruyucu rol oynadığı rapor edilmiştir (86-89). Yaptığımız literatür araştırmaları sonucu deneysel mABH patofizyolojisi üzerinde relaksin tedavisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmamızda relaksinin 6 saat ara ile subkutan enjeksiyonunun deneysel mABH modelinde böbrek fonksiyonları ve patogenezi üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

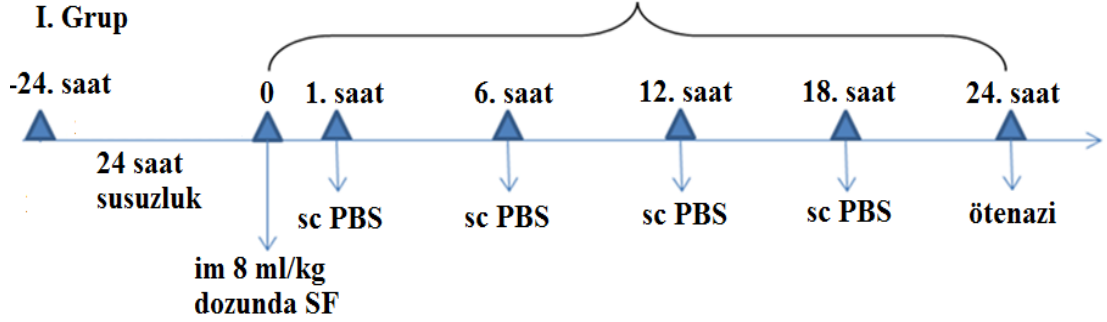


GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda; Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilen ve standart laboratuvar koşullarında ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) tutulan, 190-220 gram ağırlığında Spraque Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. Mevcut çalışma için, Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'dan onay (Karar no: 2015.02.02) alındı. Etik kurul kararı ekte sunulmuştur (Ek-1). Sıçanlar Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda, standart sıçan yemi ve artırılmış musluk suyu verilerek beslendi. Çalışmamızda birinci ve ikinci gruplarda 8'er adet, üçüncü ve dördüncü gruplarda 10'ar adet olmak üzere toplam 36 adet sıçan dört gruba ayrıldı. Çalışmamıza başlamadan 24 saat önce sıçanlar susuz bırakıldı. Sıçanlara ilk enjeksiyondan sonra serbest yem ve su alımı sağlandı.

- 1. Grup (Kontrol);** Sıçanlara 8 ml/kg dozunda intramusküler serum fizyolojik uygulandıktan sonra tüm sıçanlar metabolik kafeslere alındı. Serum fizyolojik verildikten sonra; 1. saatte, 6. saatte, 12. saatte ve 18. saatte subkutan fosfat tampon çözeltisi (PBS) enjeksiyonları metabolik kafes içerisinde gerçekleştirildi. Uygulanan deneysel protokol Şekil 1'de gösterilmiştir.

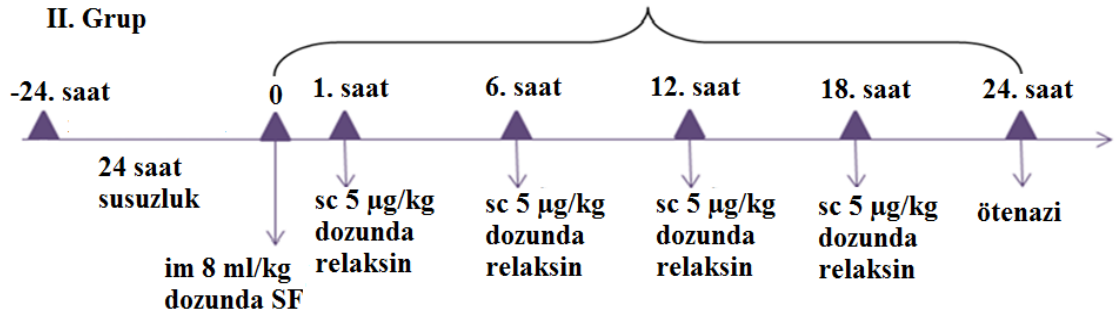
Tüm uygulamalar metabolik kafes içerisinde gerçekleştirildi.



Şekil 1. Kontrol grubunun deneysel protokolü

2. **Grup (Kontrol+Relaksin);** Sıçanlara 8 ml/kg dozunda intramüsküler serum fizyolojik uygulandıktan sonra tüm sıçanlar metabolik kafeslere alındı. Serum fizyolojik verildikten sonra 1. saatte, 6. saatte, 12. saatte ve 18. saatte 5 µg/kg dozunda subkutan relaksin enjeksiyonları metabolik kafes içerisinde gerçekleştirildi (86,90). Uygulanan deneysel protokol Şekil 2’de gösterilmiştir.

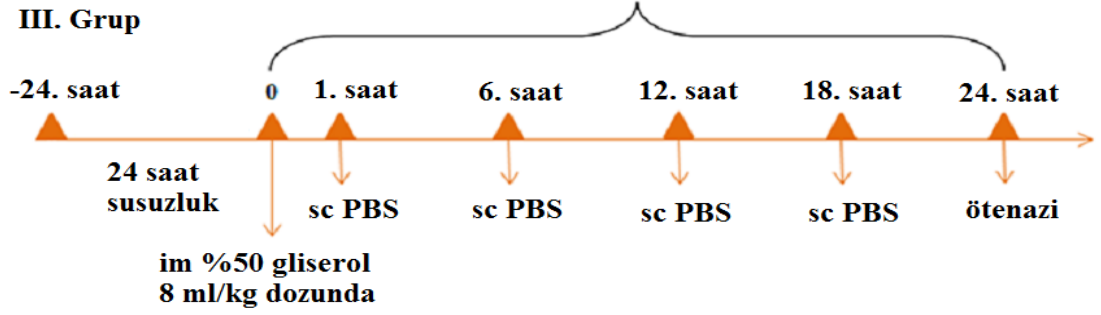
Tüm uygulamalar metabolik kafes içerisinde gerçekleştirildi.



Şekil 2. Kontrol+Relaksin grubunun deneysel protokolü

3. **Grup (ABH);** Sıçanlara 8 ml/kg dozunda intramüsküler hipertonic gliserol enjeksiyonu yapıldıktan sonra tüm sıçanlar metabolik kafeslere alındı. İntramüsküler gliserol enjeksiyonunu takiben 1. saatte, 6. saatte, 12. saatte ve 18. saatte, subkutan PBS uygulamalarının hepsi metabolik kafes içerisinde gerçekleştirildi. Uygulanan deneysel protokol Şekil 3’te gösterilmiştir.

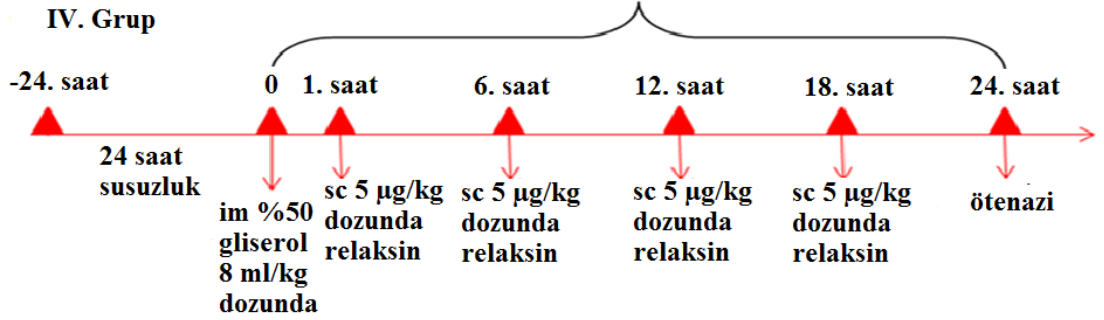
Tüm uygulamalar metabolik kafes içerisinde gerçekleştirildi.



Şekil 3. ABH grubunun deneysel protokolü

4. Grup (ABH+ Relaksin); Sıçanlara 8 ml/kg dozunda intramüsküler hipertonic gliserol enjeksiyonu yapıldıktan sonra, tüm sıçanlar metabolik kafeslere alındı. İntramüsküler gliserol enjeksiyonunu takiben 1. saatte, 6. saatte, 12. saatte ve 18. saatte, 5 µg/kg dozunda subkutan relaksin uygulamalarının hepsi metabolik kafes içerisinde gerçekleştirildi. Uygulanan deneysel protokol Şekil 4’te gösterilmiştir.

Tüm uygulamalar metabolik kafes içerisinde gerçekleştirildi.



Şekil 4. ABH+Relaksin grubunun deneysel protokolü

Sıçanlarda hipertonic gliserol veya SF’nin intramüsküler enjeksiyonununun 24. saatinde metabolik kafeslerde toplanan idrar hacimleri ölçüldü ve ardından idrar örnekleri tüplere aktarıldı. Daha sonra sıçanlara 10 mg/kg rompun ve 50 mg/kg ketamin anestezisi altında kanları ve her iki böbreği alınarak, cerrahi sırasında ekssanguinasyon yöntemiyle ötenazi yapıldı. Böbrekler uzunlamasına ikiye bölündü. Sağ böbreğin yarısı patolojik inceleme için %10’luk tamponlu formol solüsyonuna konuldu. Sağ böbreğin diğer yarısı ve sol böbreğin her iki yarısı soğuk PBS içine konulup daha sonra kurutma kâğıdı ile kurutuldu ve alüminyum folyo kâğıdı

ile sarılıp soğuk zincir koşullarında laboratuvarımıza ulaştırıldı. Dokuların bir kısmı analizler yapılncaya kadar -80 °C’de muhafaza edildi. Diğer dokular ise fosfat tamponu kullanılarak homojenize edildikten sonra, +4 °C’de 1500 xg’de 15 dakika süre ile santrifüj edildi ve elde edilen homojenatlar -80 °C’de saklandı. İdrar örnekleri, +4 °C’de 3000 rpm’de 20 dakika süre ile santrifüj edildikten sonra idrar süpernatantları ependorf tüplere pipetlenerek laboratuvar çalışmaları yapılncaya kadar -80 °C’de muhafaza edildi. Kan örneklerinin bir kısmı yaklaşık 2 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra, +4 °C’de 3000 rpm’de 20 dakika süre ile santrifüj edildi. Bir kısmı ise kan örnekleri toplandıktan sonra yarım saat içinde 3000 rpm’de 20 dakika süre ile santrifüj edildi ve elde edilen serum örnekleri ependorf tüplere pipetlenerek laboratuvar çalışmaları yapılncaya kadar -80 °C’de muhafaza edildi.

KULLANILAN GEREÇLER

Kullanılan Alet ve Malzemeler

Cam malzemeler	: Denev tüpleri, balon jojeler, beherler v.b.
Derin dondurucu	: Thermo Elektron Corporation, (USA)
Hassas terazi	: Mettler Toledo, AB204-S, İsviçre
Soğutmalı santrifüj	: MPW 350R, Polonya
ELISA Plaka Okuyucu	: Bio Tek Instruments, Inc (USA)
Elisa plaka yıkayıcı	: Bio Tek Instruments, Inc (USA)
Su banyosu	: Nickel Clifton Elektro LTD, İngiltere
Homojenizatör	: Polytron Kinematica AG (İsviçre)
pH metre	: InoLab, Level 1, Almanya
Manyetik karıştırıcı	: Biosan MSH-300, Litvanya
Orbital çalkalayıcı	: Biosan PSU-10i, Letonya
Otomatik pipetler	: Eppendorf (Almanya)
Spektrofotometre	: Spectronic Unicam Helios α , (İngiltere)
Otoanalizör	: Abbot Architect c16, Amerika
Vorteks	: Heidolph, Almanya
Binoküler mikroskop	: Carl Zeiss Jena, Almanya
Doku gömme cihazı	: Leica EG 1160, Almanya
Rotary mikrotom	: Shandon M1R, Fransa
Otomatik doku takip cihazı	: Leica TP 1050, Almanya

Kullanılan Kimyasal Malzemeler

rh Relaxin-2	: R&D Systems (B-33/A-24), ABD
Phosphate Buffered Saline	: Gibco, İskoçya, UK
Gliserol	: Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Seenheim, Almanya
Sodyum dodesil sülfat	: Merck&Co., Inc., Darmstadt, Almanya
Tiyobarbitürik asit	: Merck&Co., Inc., Darmstadt, Almanya
Butanol	: Merck&Co., Inc., Darmstadt, Almanya
Piridin	: Merck&Co., Inc., Darmstadt, Almanya
NaOH	: Merck, Almanya
Asetik asit	: Merck, Almanya
KIM-1 ELISA Kit	: Mybiosource (MBS564137), ABD
Okside Glutasyon ELISA Kit	: Mybiosource (MBS752665), ABD
Redükte Glutasyon ELISA Kit	: Mybiosource (MBS724319), ABD
Nitrik Oksit ELISA Kit	: Enzo (ADI-917-020)
Relaksin ELISA Kit	: Mybiosource (MBS024990), ABD
iNOS antikor	: EMD, Millipore (AB5384)
eNOS antikor	: EMD, THERMO (PA3-031A)

KULLANILAN YÖNTEMLER

Biyokimyasal Çalışmalar

Serum numunelerinde; sodyum (Na⁺), potasyum (K⁺), üre, kreatinin düzeyleri ile aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH) ve kreatin kinaz (CK) aktiviteleri ile idrar numunelerinde; üre, kreatinin, ve sodyum düzeyleri Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Laboratuvarı'nda bulunan otoanalizör cihazında (Abbot Architect c16, Amerika) değerlendirilmiştir. Kreatinin klirensi standart klirens formülüne göre hesaplandı. Fraksiyonel sodyum atılımı (FeNa) % olarak hesaplandı.

$$\text{Kreatinin klirensi (ml/dk)} = \frac{\text{İdrar kreatinin (mg/dl)} \times \text{Günlük idrar hacmi (ml)}}{\text{Serum kreatinin (mg/dl)} \times 1440}$$

$$\text{FeNa (\%)} = \frac{\text{İdrar Na (mmol/l)} \times \text{Serum kreatinin (mg/dl)} \times 100}{\text{İdrar kreatinin (mg/dl)} \times \text{Serum Na (mmol/l)}}$$

Böbrek Dokusu Homojenizasyonu

Homojenizasyon için öncelikle çalışma prosedürüne uygun olan tampon solüsyonlar hazırlandı. Böbrek dokusunda MDA analizi için 0.15 M KCl solüsyonu, okside glutatyon, redükte glutatyon ve nitrik oksit ölçümü için 50 mM fosfat tampon solüsyonu (pH 7.4) hazırlandı. Böbrek dokusu derin dondurucudan çıkarıldıktan sonra soğuk zincir koşullarında buz çözülmeyen bistüri yardımıyla kesilerek hassas terazide tartıldı. Tartımı yapılan dokular soğuk zincir koşullarında bistüri yardımıyla daha küçük parçalara ayrıldı ve homojenizasyon tüplerine aktarıldı. Doku ağırlıklarına göre çalışmanın metodolojisine uygun olan solüsyon ile sulandırılarak homojenizasyon tüpleri içerisindeki dokular, buz dolu beherin üzerinde tutularak homojenizatör ile homojenize edildi. Hazırlanan homojenatlar 4000 rpm'de 10 dakika +4 °C'de santrifüj edildi ve süpernatant ayrıldı. Ayrılan süpernatantlar MDA, okside ve redükte glutatyon, NO düzeyleri ölçümlerinde kullanıldı.

Malondialdehit Miktar Tayini

Lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan renk spektrofotometrik olarak ölçüldü (91).

Çözeltiler

1. %8.1'lik Sodyum dodesil sülfat (SDS)
2. %20'lik Asetik asit (2M NaOH ile pH 3.5'e ayarlandı)
3. %0.8'lik tiyobarbitürik asit (TBA)
4. n-Butanol/Piridin (15:1)

Deneyin yapılışı: 0.2 ml 10 kat dilüe edilmiş doku homojenatı; 0.2 ml %8.1'lik SDS, 1.5 ml %20'lik asetik asit, 1.5 ml %0.8'lik TBA ve 0.6 ml distile su ile karıştırıldı. Karışım 95 °C'deki sıcak su banyosunda 1 saat tutuldu. Musluk suyu ile soğutulduktan sonra üzerine 1 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin (15:1) eklenerek vorteksle 1 dakika karıştırıldı. Organik faz 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek ayrıldı. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 532 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında okundu.

Sonuçların hesaplanması;

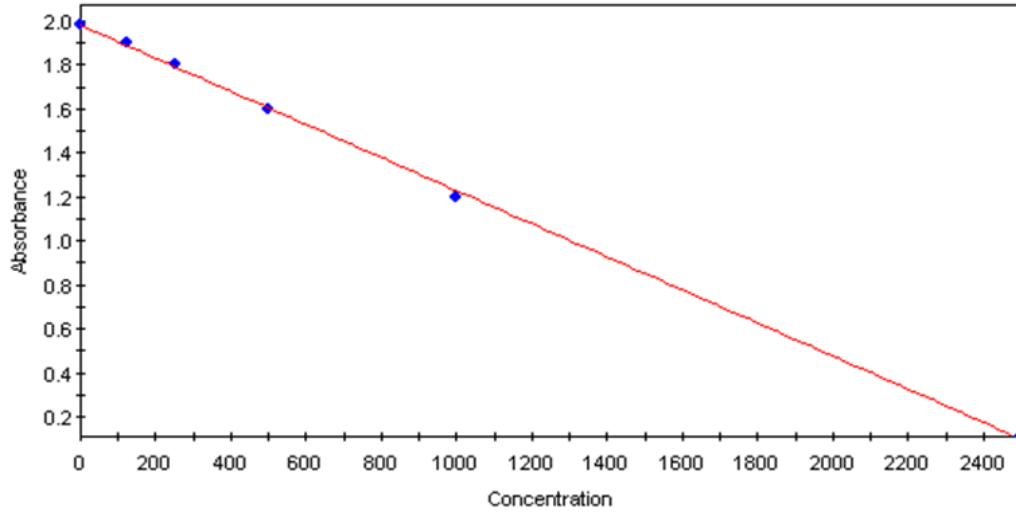
$$C \left(\frac{\text{nmol}}{\text{ml}} \right) = \frac{A \times V_t \times 10^9}{E \times V_s \times L \times 10^3}$$

- A : Absorbans
E : Tüketim katsayısı ($1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
Vt : Total reaksiyon hacmi
Vs : Total reaksiyon içindeki numune hacmi
L : Küvet çapı
 10^9 : Molün nanomole çevrilmesi
 10^3 : Litrenin mililitreye çevrilmesi

Sonuçlar MDA nmol/g doku olarak ifade edildi.

Okside Glutasyon Düzeylerinin Ölçümü

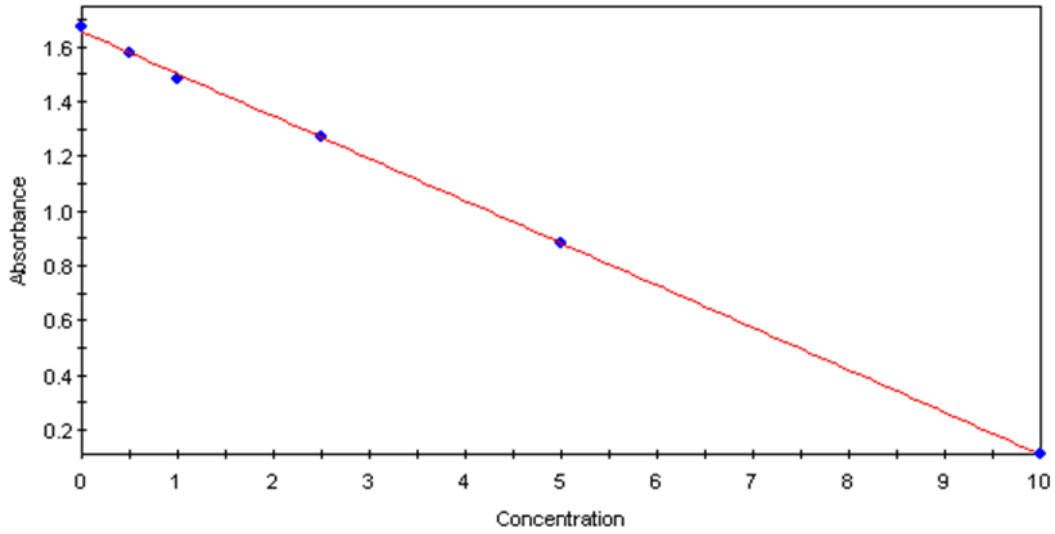
Böbrek homojenatında okside glutasyon düzeylerinin değerlendirilmesi için Mybiosource marka (Kat no: MBS752665) ELISA kit kullanılmıştır. Çalışma öncesinde -80°C 'de muhafaza edilen böbrek homojenatları ve ayrıca kit prosedürüne uygun olarak muhafaza edilen tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Reaktifler kit kullanım kılavuzuna uygun olarak hazırlanmıştır. Mevcut kit prosedürüne uygun olarak Blank, standart ve numune kuyucukları belirlenmiştir. Standart konsantrasyonları 0, 125, 250, 500, 1000, 2500 pg/ml'dir. Blank kuyucuğuna 100 µl PBS, standart kuyucuklarına ise 100 µl kitte hazır olarak bulunan standartlardan, numune kuyucuklarına ise 100 µl böbrek homojenatı pipetlenmiştir. Ardından numune kuyucuklarına 10 µl balance solüsyonu pipetlenmiştir. Blank kontrol kuyucuğu hariç her kuyucuğa 50 µl konjugat pipetlendikten sonra iyice karıştırıldı. Bu aşamadan sonra plakanın üstü kapatılarak 37°C 'de 1 saat süreyle inkübe edildi. Ardından kit kullanım kılavuzuna uygun olarak hazırladığımız yıkama solüsyonunu kullanarak otomatik plaka yıkama cihazında 5 kez yıkama yapıldı. Yıkama sonrasında blank dâhil tüm kuyucuklara 50 µl substrat A solüsyonundan ardından, 50 µl substrat B solüsyonundan pipetlendi. ELISA plakası, 10-15 dakika 37°C 'de bekledikten sonra 50 µl stop solüsyonu pipetlenerek reaksiyon sonlandırıldı. ELISA plaka okuyucusunda 450 nm'de okuma gerçekleştirildi. Çalışmanın standart grafiği Şekil 5'te gösterildi.



Şekil 5. Okside Glutatyon ELISA çalışmasının standart grafiği

Redükte Glutatyon Düzeylerinin Ölçümü

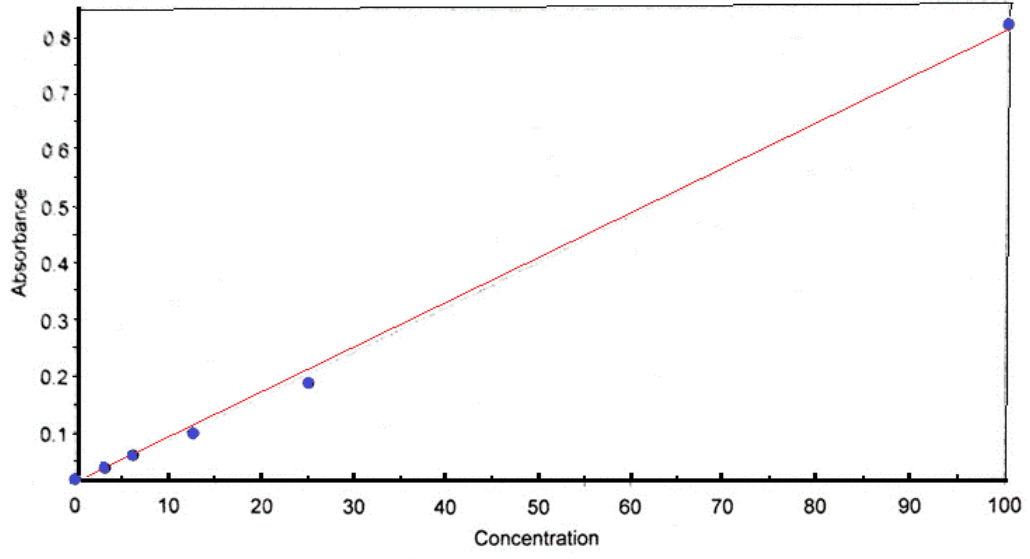
Böbrek homojenatında redükte glutatyon düzeylerinin değerlendirilmesi için Mybiosource marka (Kat no: MBS724319) ELISA kit kullanılmıştır. Çalışma öncesinde -80 °C’de muhafaza edilen böbrek homojenatları ve ayrıca kit prosedürüne uygun olarak muhafaza edilen tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Reaktifler kit kullanım kılavuzuna uygun olarak hazırlanmıştır. Mevcut kit prosedürüne uygun olarak Blank, standart ve numune kuyucukları belirlenmiştir. Standart konsantrasyonları 0, 0.5, 1, 2.5, 5, 10 ng/ml’dir. Blank kuyucuğuna 100 µl PBS (pH 7-7,2), standart kuyucuklarına ise 100 µl kitte hazır olarak bulunan standartlardan, numune kuyucuklarına ise 100 µl böbrek homojenatı pipetlenmiştir. Ardından numune kuyucuklarına 10 µl balance solüsyonu pipetlenmiştir. Blank kontrol kuyucuğu hariç her kuyucuğa 50 µl konjugat pipetlendikten sonra iyice karıştırıldı. Bu aşamadan sonra plakanın üstü kapatılarak 37 °C’de 1 saat süreyle inkübe edildi. Kuyucukların aspirasyonunu takiben kit kullanım kılavuzuna uygun olarak hazırladığımız yıkama solüsyonunu kullanarak otomatik plaka yıkama cihazında 5 kez yıkama yapıldı. Ardından tüm kuyucuklara 50 µl substrat A solüsyonundan sonrasında 50 µl substrat B solüsyonu pipetlendi. Plakanın üstü kapatılarak ve güneş ışığından sakınarak 10-15 dakika süreyle 37 °C’de inkübe edildi. İnkübasyonu takiben 50 µl stop solüsyonu pipetlenerek reaksiyon sonlandırıldı. ELISA plaka okuyucusunda 450 nm’de okuma gerçekleştirildi. Çalışmanın standart grafiği Şekil 6’da gösterildi.



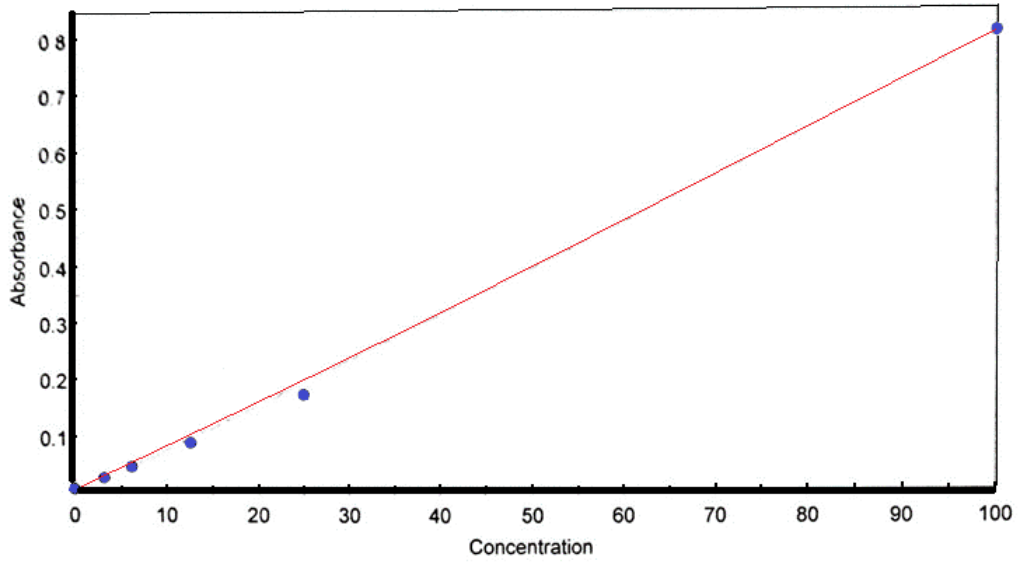
Şekil 6. Redükte Glutasyon ELISA çalışmasının standart grafiği

Nitrik Oksit Ölçümü

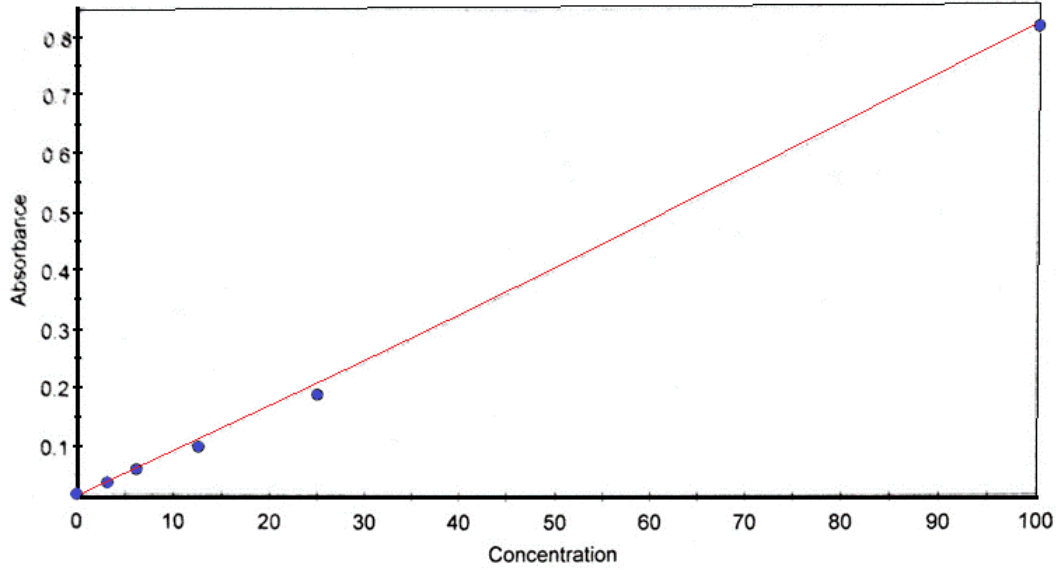
Serum, idrar ve böbrekte nitrik oksit düzeylerinin değerlendirilmesinde katalog numarası ADI-917-020 olan Enzo marka kit kullanıldı. Çalışmaya başlamadan önce -80 °C’de muhafaza edilen serum, idrar ve böbrek numuneleri ve ayrıca kit prosedürüne uygun olarak muhafaza edilen tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Tüm örnek ve reaktifler kit kullanım kılavuzuna uygun olarak hazırlanmıştır. Kullanılacak kuyucuk sayısı belirlenip tüm standart ve örnekler çift çalışılmıştır. Blank kuyucuklarına 200 µl reaksiyon tamponu pipetlendi. 1’den 6’ya kadar olan standart kuyucuklarına 50 µl standartlar pipetlendi. Standartlar deneysel protokolde belirtildiği gibi, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 ve 3.125 µmol/l konsantrasyonlarda olup çift çalışılmıştır. Zero standart olarak 50 µl reaksiyon buffer pipetlendi. Ardından serum, idrar ve böbrek numunelerinden 50 µl alınarak örnek kuyucuklarına pipetlendi. Tüm zero standart, standart ve örnek kuyucuklarına 25 µl final NADH dilüsyonu pipetlendi. Ardından tüm zero standart, standart ve örnek kuyucuklarına nitrat redüktaz final enzim dilüsyonundan 25 µl pipetlendikten sonra plakanın yan tarafından tutularak dikkatli bir şekilde karıştırıldı sonrasında 37 °C’de 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından blank kuyucuğu hariç her kuyucuğa 50 µl Griess Reagent I pipetlendi. Ardından yine deneysel protokole uygun olarak blank kuyucuğu hariç her kuyucuğa 50 µl Griess Reagent II pipetlendi. Plakanın yan tarafından tutularak dikkatli bir şekilde karışması sağlandı ve ardından oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir ve son olarak ELISA cihazında 545 nm’de nitrik oksit düzeyleri ölçülmüştür. Serum NO standart grafiği Şekil 7’de gösterildi. Doku NO standart grafiği Şekil 8’de gösterildi. İdrar NO standart grafiği Şekil 9’da gösterildi.



Şekil 7. Serum NO ELISA çalışmasının standart grafiği



Şekil 8. Doku NO ELISA çalışmasının standart grafiği

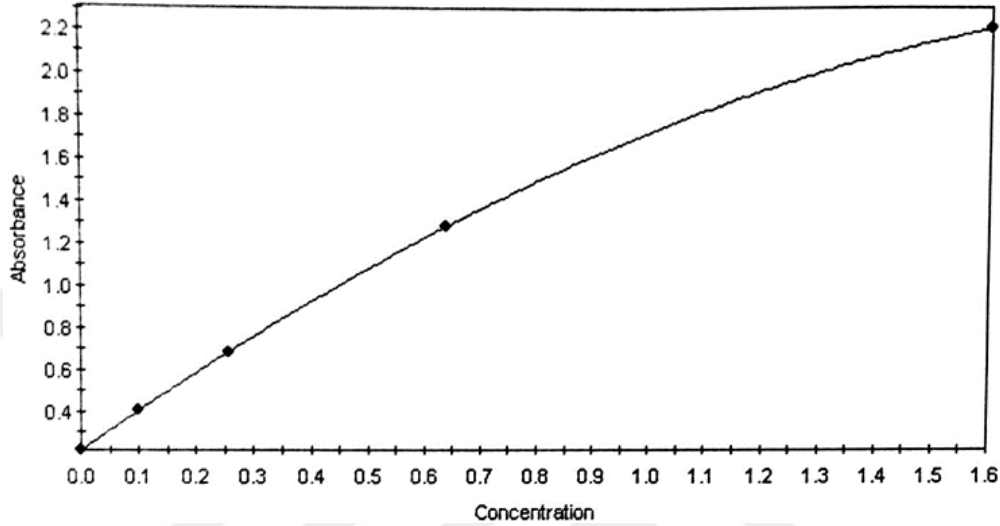


Şekil 9. İdrar NO ELISA çalışmasının standart grafiği

İdrar KIM-1 Düzeylerinin Ölçümü

İdrar KIM-1 düzeyleri ölçümünde Mybiosource marka ELISA kit (katalog no: MBS564137) kullanıldı ve kit prosedürüne uygun olarak analiz edildi. Çalışmaya başlamadan önce -80 °C’de muhafaza edilen idrar örnekleri ve ayrıca kit prosedürüne uygun olarak muhafaza edilen tüm belirteçler oda sıcaklığına getirildi. Kit prosedüründe belirtilen standartlar hazırlanarak ilgili kuyucuklara 100 mikrolitre pipetlendi. Örnek kuyucuklarına ise 100 mikrolitre idrar örnekleri pipetlendi. Plakanın üstü kapatılarak 120 dakika boyunca oda sıcaklığında orbital karıştırıcıda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından kit metodolojisine uygun olarak laboratuvarımızda bulunan otomatik plaka yıkayıcı ile toplamda 4 kez yıkama yapıldı. Yıkama sonrası kuyucukların nemli olmamasına dikkat edildi. Uygun şekilde dilüe edilmiş belirleme antikorunu her kuyucuğa 100 mikrolitre olacak şekilde pipetlendi ve daha sonra oda sıcaklığında karanlık ortamda 20 dakika boyunca orbital karıştırıcıda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından kit metodolojisine uygun olarak laboratuvarımızda bulunan otomatik plaka yıkayıcı ile toplamda 4 kez yıkama yapıldı. Yıkama sonrası kuyucukların nemli olmamasına dikkat edildi. Uygun şekilde dilüe edilmiş HRP-streptavidin her kuyucuğa 100 µl pipetlendi ve daha sonra oda sıcaklığında karanlık ortamda 20 dakika boyunca orbital karıştırıcıda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından kit metodolojisine uygun olarak laboratuvarımızda bulunan otomatik plaka yıkayıcı ile toplamda 4 kez yıkama yapıldı. Yıkama sonrası kuyucukların nemli olmamasına dikkat edildi. Ardından her kuyucuğa 100 µl TMB substrat solüsyonu pipetlendi ve daha sonra oda sıcaklığında

karanlık ortamda 10 dakika boyunca orbital karıştırıcıda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından her kuyucuğa 100µl reaksiyonu sonlandırma solüsyonu pipetlendi. ELISA cihazında 450 nm dalga boyunda idrar KIM-1 düzeyleri ölçüldü. Çalışmanın standart grafiği Şekil 10'da gösterildi.

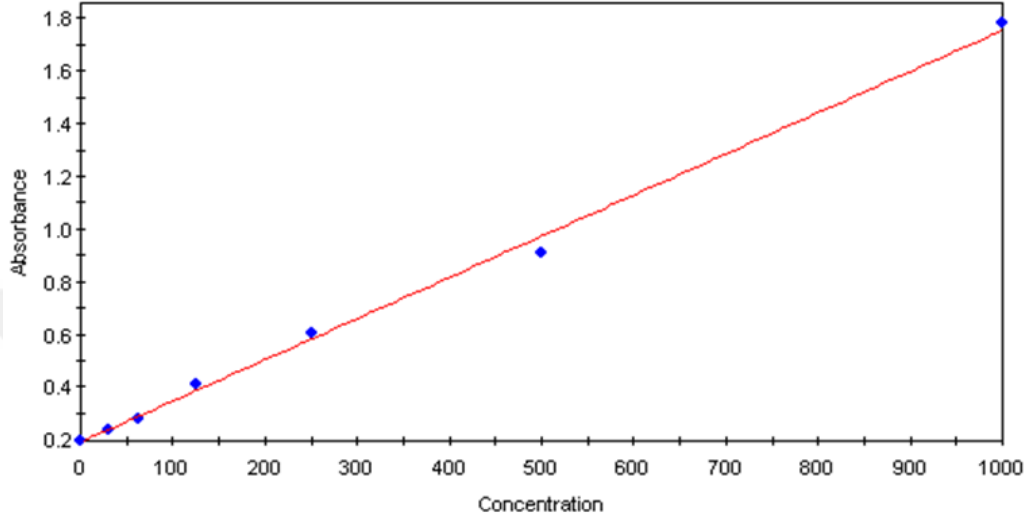


Şekil 10. İdrar KIM-1 ELISA çalışmasının standart grafiği

Serum Relaksin Düzeylerinin Ölçümü

Serum relaksin düzeyleri ölçümünde Mybiosource marka ELISA kit (katalog no: MBS024990) kullanıldı ve kit prosedürüne uygun olarak analiz edildi. Relaksin serum seviyelerinin değerlendirilmesi için, kan örnekleri toplandıktan sonra yarım saat bekletilmiş ve ardından 3000 rpm'de 20 dakika süre ile +4 °C'de santrifüj edilmiş serum örnekleri kullanıldı. Çalışmaya başlamadan 30 dakika önce -80 °C'de muhafaza edilen serum örnekleri ve ayrıca kit prosedürüne uygun olarak muhafaza edilen tüm belirteçler oda sıcaklığına getirildi. Çalışma prosedüründeki ELISA plakasında standart kuyucuğu, blank/kontrol kuyucuğu ve örnek kuyucuğu bulunmaktadır. Standart ve blank/kontrol kuyucuğuna kit metodolojisine uygun pipetlemeler yapıldıktan sonra 50 mikrolitre serum örnekleri örnek kuyucuklarına pipetlendi. Her kuyucuğa 100 mikrolitre HRP konjugatı eklendikten sonra plakanın üzeri kit kutusunda bulunan şeffaf bantla kapatılarak 37 °C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından kit metodolojisine uygun olarak laboratuvarımızda bulunan otomatik plaka yıkayıcı ile 4 kez yıkama yapıldı. Yıkama sonrası kuyucukların nemli olmamasına dikkat edildi. Ardından sırayla her kuyucuğa 50 mikrolitre A kromojeni ve sonra 50 mikrolitre B kromojeni eklendi. Işık bulunmayan ortamda 37 °C'de 15 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan

sonra her kuyucuğa 50 mikrolitre reaksiyonu sonlandıran solüsyon eklendi ve oluşan mavi rengin sarıya dönüştüğü gözlemlendi. Sonlandırma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda ELISA cihazında serum relaksin seviyeleri ölçüldü. Çalışmanın standart grafiği Şekil 11’de gösterildi.



Şekil 11. Serum Relaksin ELISA çalışmasının standart grafiği

Histopatolojik Çalışmalar

Işık mikroskopik inceleme: Mikroskopik değerlendirme için %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda fikse edilen böbrek dokularının parafin blokları hazırlandı. Bu dokulardan mikrotom cihazı ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitler ışık mikroskopik histopatolojik değerlendirme için hematoksilin-eozin ile boyandı. Renal hasarın derecesini değerlendirmek için semikantitatif bir skala ile skorlama yapıldı. Renal hasarın derecesi; tübüler hücre nekrozu, sitoplazmik vakuol oluşumu, tübüler dilatasyon değerlendirilerek belirlenmiştir. Skalada 0 ile 4 arasında skorlama yapıldı. Daha yüksek skorlar daha şiddetli hasarı temsil etmektedir. Skorlama da; 0: Normal böbrek, 1: Minimal hasar (% 0-5 tutulum), 2: Hafif dereceli hasar (% 5-25 tutulum), 3: Orta dereceli hasar (% 25-75 tutulum), 4: Ciddi hasarı (% 75-100 tutulum) temsil etmektedir (92).

İmmünohistokimyasal yöntem: Böbrek dokusu bloklarından iNOS ve eNOS düzeylerinin tespit edilmesi amacıyla kesitler alındı. iNOS'un immünohistokimyasal değerlendirilmesinde EMD, Millipore markalı (ürün kodu: AB5384) antikor kullanıldı.

eNOS'un immünohistokimyasal değerlendirmesinde EMD, THERMO markalı (ürün kodu: PA3-031A) antikor kullanıldı.

iNOS ve eNOS için:

- 1) Slayt 75 °C'ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 2) Depar için 12 dakika Ventana medikal sistemleri için EZ Prep konsantre solüsyon (Ez Prep) uygulandı.
- 3) "Liquid Coverslip" (LCS) uygulandı.
- 4) Slayt 76 °C'ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 5) Slayt çalkalandı.
- 6) LCS uygulandı.
- 7) Slayt 95 °C'ye kadar ısıtıldı ve 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 8) Antijen geri kazanımı için 60 dakika "Cell Conditioning 1" (CC1) uygulandı.
- 9) 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 10) 2 defa "Reaction Buffer" ile yıkandı ve LCS uygulandı.
- 11) Slayt 37 °C'ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 12) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 13) Bir damla inhibitor uygulandı.
- 14) LCS uygulandı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 15) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 16) Slayt 37 °C'ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 17) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 18) LCS uygulandı.
- 19) Primer antikorlar (eNOS, iNOS) uygulandı ve 1 saat süreyle inkübe edildi.
- 20) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 21) LCS uygulandı.
- 22) Slayt 37 °C'ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 23) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 24) Bir damla "Amplifier A" uygulandı.
- 25) LCS uygulandı ve 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 26) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 27) Bir damla "Amplifier B" uygulandı.
- 28) LCS uygulandı ve 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 29) "Reaction Buffer" uygulandı.

- 30) LCS uygulandı.
- 31) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 32) Bir damla "Blocker A" uygulandı.
- 33) LCS uygulandı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 34) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 35) Bir damla "Blocker B" uygulandı.
- 36) LCS uygulandı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 37) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 38) Bir damla "Biotinylated Immunoglobulin" uygulandı.
- 39) LCS uygulandı ve 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 40) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 41) LCS uygulandı.
- 42) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 43) Bir damla "Avidin-HRPO" (Avidin-Horseradish Peroxidase) uygulandı.
- 44) 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 45) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 46) LCS uygulandı.
- 47) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 48) Bir damla "3-Amino-9-EthylCarbazole" (AEC) ve bir damla AEC hidrojen peroksit (H₂O₂) uygulandı.
- 49) LCS uygulandı.
- 50) 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 51) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 52) Bir damla "Hematoxylin" uygulandı.
- 53) LCS uygulandı ve 16 dakika süreyle inkübe edildi.
- 54) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 55) LCS uygulandı.
- 56) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 57) Bir damla "Bluing Reagent" uygulandı.
- 58) Lamel uygulandı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 59) "Reaction Buffer" uygulandı.
- 60) LCS uygulandı.
- 61) Lamlar sistemden çıkarılıp deterjanlı suyla yıkandı.

62) Lamlar kurutulup Aquamount ile kapatıldı (93).

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. Grup1 ile Grup 2, Grup 1 ile Grup 3 ve Grup 3 ile Grup 4 arasındaki karşılaştırmalarda Mann Whitney U testi kullanıldı. $p<0,05$ değeri istatistiksel anlamlılık için sınır değeri olarak belirlendi. İstatistiksel analizlerde SPSS 19.0 (Lisans no=10240642) paket programı kullanıldı.



BULGULAR

Mevcut çalışmamızda, hipertonic gliserolün im. uygulanmasıyla oluşturulan deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı modelinde birinci ve ikinci gruplarda 8'er adet, üçüncü ve dördüncü gruplarda 10'ar adet olmak üzere toplamda 36 adet Spraque Dawley erkek sıçan kullanıldı. Gliserol enjeksiyonunun 24. saatinde sıçanların bulunduğu metabolik kafeslerde toplanan idrar hacimleri ölçülerek örnekleri alındı ve ardından anestezik koşullarda sıçanların kan ve böbrek dokuları alındı. Ancak dördüncü gruptan 4 numaralı sıçandan idrar alınamadı ve üçüncü gruptaki 1,5,10 numaralı ve yine dördüncü gruptaki 1,2,3,7 numaralı sıçanlardan az miktarda idrar örneği alındığı için bazı idrar parametreleri ölçülemedi.

BİYOKİMYASAL BULGULAR

Tüm grupların serum örneklerine ait verilerinin, ortalama \pm standart sapma sonuçları ve istatistiksel değerlendirilmeleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Tablo 1'de gösterildiği gibi serum üre, serum kreatinin ve serum ALT düzeyleri Grup 1'e kıyasla Grup 2'de anlamlı düşük bulundu, yine serum üre, serum kreatinin, serum potasyum, serum ALT, serum AST, serum CK, serum LDH ve serum NO düzeyleri Grup 1'e kıyasla Grup 3'te anlamlı yüksek bulundu. Diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Tablo 1. Serum değişkenlerine ilişkin istatistiksel sonuçlar

Parametreler	1.Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	P
Üre mg/dl	33,00±6,35	23,75±2,55	412,00±37,11	374,80±56,65	G ₁ -G ₂ =0,008 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =0,070
Kreatinin mg/dl	0,39±0,05	0,36±0,02	2,72±0,56	2,57±0,71	G ₁ -G ₂ =0,030 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =0,821
Sodyum mmol/l	128,63±9,24	123,25±6,43	125,40±8,04	122,50±10,29	G ₁ -G ₂ =0,082 G ₁ -G ₃ =0,181 G ₃ -G ₄ =0,621
Potasyum mmol/l	4,95±0,73	4,58±0,76	7,01±1,01	6,25±1,37	G ₁ -G ₂ =0,266 G ₁ -G ₃ =0,001 G ₃ -G ₄ =0,212
ALT U/l	53,13±20,92	37,88±3,48	157,90±65,29	173,00±93,17	G ₁ -G ₂ =0,012 G ₁ -G ₃ =0,001 G ₃ -G ₄ =0,821
AST U/l	146,38±41,40	119,25±11,52	1388,10 ± 528,59	1868,70 ± 1249,61	G ₁ -G ₂ =0,269 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =0,597
CK U/l	707,88 ± 213,82	616,75±90,11	9362,50 ± 17657,10	13763,80 ± 18717,74	G ₁ -G ₂ =0,156 G ₁ -G ₃ =0,001 G ₃ -G ₄ =0,545
LDH U/l	779,38 ± 319,50	542,13 ± 231,62	3237,60 ± 2443,81	4559,90 ± 3480,36	G ₁ -G ₂ =0,093 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =0,496
Relaksin pg/ml	184,75±46,91	166,93±47,29	166,58±52,33	144,22±63,95	G ₁ -G ₂ =0,401 G ₁ -G ₃ =0,230 G ₃ -G ₄ =0,734
Nitrik Oksit µmol/l	45,43±14,03	37,82±6,36	59,74±13,66	59,83±6,33	G ₁ -G ₂ =0,172 G ₁ -G ₃ =0,021 G ₃ -G ₄ =0,762

P: İstatistiksel olarak gruplar arası farklılıklar Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. **ALT:** Alanin aminotransferaz, **AST:** Aspartat aminotransferaz, **CK:** Kreatin kinaz, **LDH:** Laktat dehidrogenaz

Tüm grupların idrar örneklerine ait verilerinin, ortalama \pm standart sapma sonuçları ve istatistiksel değerlendirilmeleri Tablo 2’de gösterilmiştir. Tablo 2’de gösterildiği gibi Grup 1’e kıyasla Grup 2’de idrar üre ve idrar kreatinin düzeyleri anlamlı düşük bulundu. Grup 1’e kıyasla Grup 3’te idrar üre, idrar sodyum, idrar kreatinin, idrar kreatinin klirensi, idrar nitrik oksit ve idrar hacimleri anlamlı düşük bulunurken, idrar böbrek hasar molekülü-1, fraksiyonel sodyum atılımı düzeyi anlamlı yüksek bulundu. Grup 3’e kıyasla Grup 4’te idrar kreatinin düzeyleri anlamlı düşük bulundu.

Tablo 2. İdrar değişkenlerine ilişkin istatistiksel sonuçlar

Parametreler	1.Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	P
Üre mg/dl	6197,75 \pm 1351,68	4985,63 \pm 533,40	839,60 \pm 238,27	664,78 \pm 317,78	G ₁ -G ₂ =0,021 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =0,142
Sodyum mmol/l	292,88 \pm 68,02	233,00 \pm 29,45	68,00 \pm 37,39	73,00 \pm 28,67	G ₁ -G ₂ =0,059 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =0,369
Kreatinin mg/dl	57,08 \pm 20,15	39,18 \pm 4,76	14,86 \pm 2,63	11,69 \pm 2,09	G ₁ -G ₂ =0,036 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =0,009
Kreatinin klirensi ml/dk	1,11 \pm 0,14	1,22 \pm 0,12	0,02 \pm 0,02	0,03 \pm 0,06	G ₁ -G ₂ =0,059 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =0,496
FeNa %	1,65 \pm 0,43	1,72 \pm 0,19	10,63 \pm 6,92	13,26 \pm 7,32	G ₁ -G ₂ =0,600 G ₁ -G ₃ =0,001 G ₃ -G ₄ =0,369
Nitrik Oksit μ mol/l	2345,60 \pm 33,19	2266,54 \pm 223,36	259,18 \pm 53,56	279,18 \pm 94,42	G ₁ -G ₂ =0,753 G ₁ -G ₃ =0,001 G ₃ -G ₄ =0,291
Böbrek Hasar Molekülü-1 ng/ml	0,02 \pm 0,01	0,01 \pm 0,01	0,42 \pm 0,10	0,40 \pm 0,09	G ₁ -G ₂ =0,958 G ₁ -G ₃ =0,001 G ₃ -G ₄ =0,427
İdrar Hacmi ml/24 saat	12,13 \pm 4,76	16,13 \pm 2,23	3,35 \pm 2,87	5,07 \pm 7,17	G ₁ -G ₂ =0,072 G ₁ -G ₃ =0,001 G ₃ -G ₄ =0,623

P: İstatistiksel olarak gruplar arası farklılıklar Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. **FeNa:** Fraksiyonel sodyum atılımı

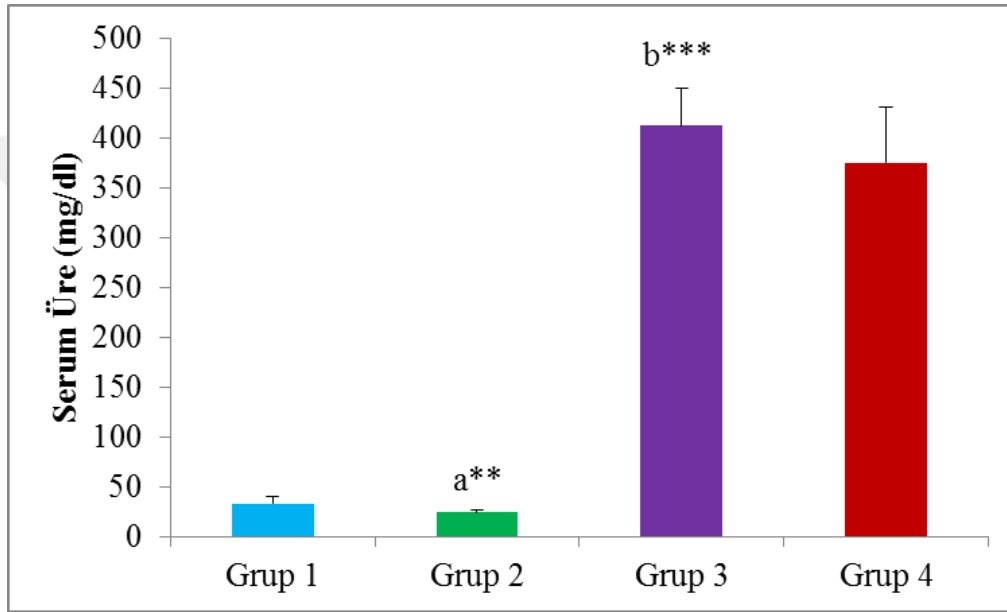
Tüm grupların böbrek dokusu örneklerine ait verilerinin, ortalama \pm standart sapma sonuçları ve istatistiksel değerlendirilmeleri Tablo 3'te gösterilmiştir. Tablo 3'te gösterildiği gibi böbrek dokusunda Grup 1'e kıyasla Grup 3'te MDA düzeyleri anlamlı yüksek bulunurken, okside GSH, redükte GSH ve NO düzeyleri anlamlı düşük bulundu.

Tablo 3. Böbrek değişkenlerine ilişkin istatistiksel sonuçlar

Parametreler	1.Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	P
MDA nmol/g doku	1,80 \pm 0,17	2,01 \pm 0,27	2,35 \pm 0,32	2,32 \pm 0,30	G ₁ -G ₂ =0,172 G ₁ -G ₃ =0,001 G ₃ -G ₄ =0,880
Okside-GSH pg/ml	986,11 \pm 91,87	955,20 \pm 67,80	583,03 \pm 112,80	565,36 \pm 99,29	G ₁ -G ₂ =0,599 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =0,597
Redükte-GSH pg/ml	5,04 \pm 0,44	4,97 \pm 0,33	4,43 \pm 0,35	4,97 \pm 1,50	G ₁ -G ₂ =0,916 G ₁ -G ₃ =0,006 G ₃ -G ₄ =0,545
Nitrik Oksit μ mol/l	134,35 \pm 7,32	138,21 \pm 26,34	115,49 \pm 10,82	110,63 \pm 20,05	G ₁ -G ₂ =0,529 G ₁ -G ₃ =0,003 G ₃ -G ₄ =0,597

P: İstatistiksel olarak gruplar arası farklılıklar Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. **MDA:** Malondialdehit, **Okside-GSH:** Okside Glutasyon, **Redükte-GSH:** Redükte Glutasyon

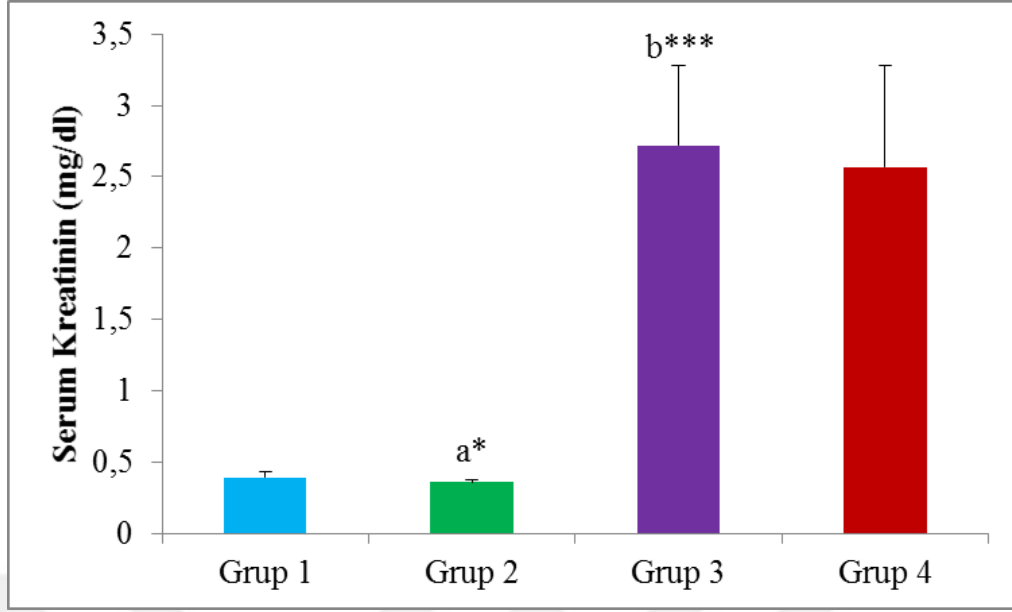
Gruplar arası ortalama serum üre düzeylerinin dağılımı Şekil 12’de gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama serum üre düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol grubu Grup 1’e kıyasla kontrol+relaksin uygulanan Grup 2’de ortalama serum üre düzeyleri $p=0,008$ ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p<0,001$ düzeyinde anlamlı yüksek bulundu, yine Grup 3 ile miyoglobinürik akut böbrek hasarı oluşturulup, relaksin uygulanan Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 12. Gruplar arası ortalama serum üre düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. a: Grup 1 ile Grup 2, b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırmalar; **: $p<0,01$, ***: $p<0,001$

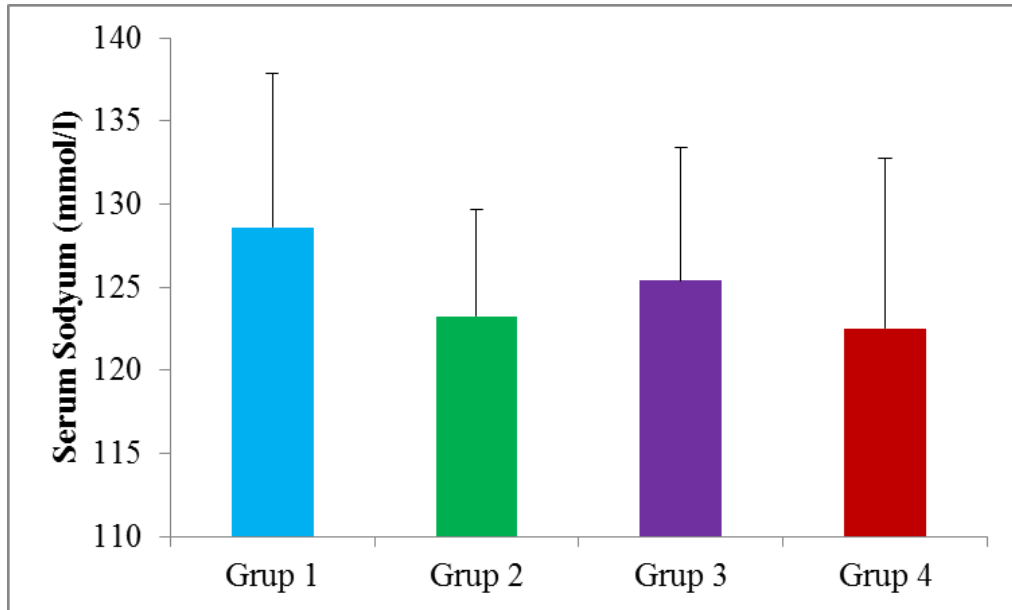
Gruplar arası ortalama serum kreatinin düzeylerinin dağılımı Şekil 13’te gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama serum kreatinin düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol grubu Grup 1’e kıyasla, kontrol+relaksin uygulanan Grup 2’de $p=0,030$ ($p<0,05$) düzeyinde anlamlı düşük bulundu, yine ortalama serum kreatinin düzeyleri Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p<0,001$ düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Grup 3 ile miyoglobinürik akut böbrek hasarı oluşturulup relaksin uygulanan Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 13. Gruplar arası ortalama serum kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. a: Grup 1 ile Grup 2, b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırmalar; *: $p < 0,05$, ***: $p < 0,001$

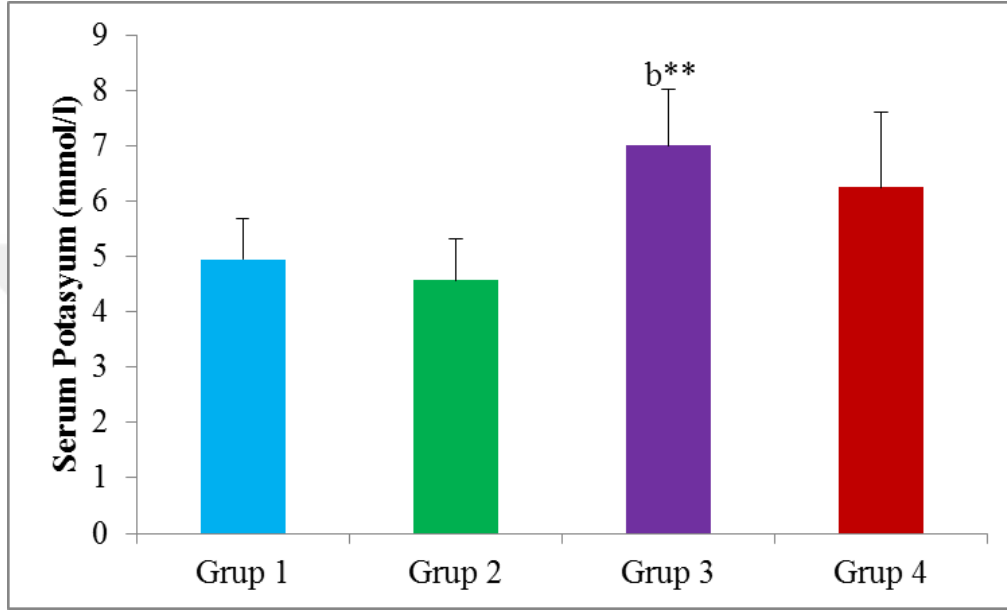
Gruplar arası ortalama serum sodyum düzeylerinin dağılımı Şekil 14’te gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama serum sodyum düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0,05$).



Şekil 14. Gruplar arası ortalama serum sodyum düzeylerinin karşılaştırılması

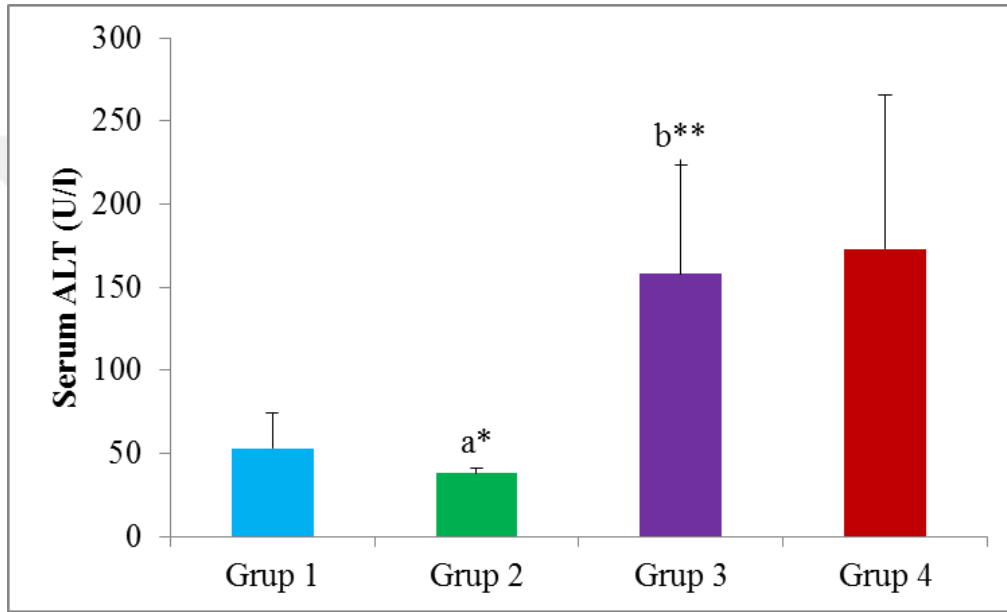
Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin

Gruplar arası ortalama serum potasyum düzeylerinin dağılımı Şekil 15'te gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama serum potasyum düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1'e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3'te $p=0,001$ ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama serum potasyum düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 15. Gruplar arası ortalama serum potasyum düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma; **: $p<0,01$

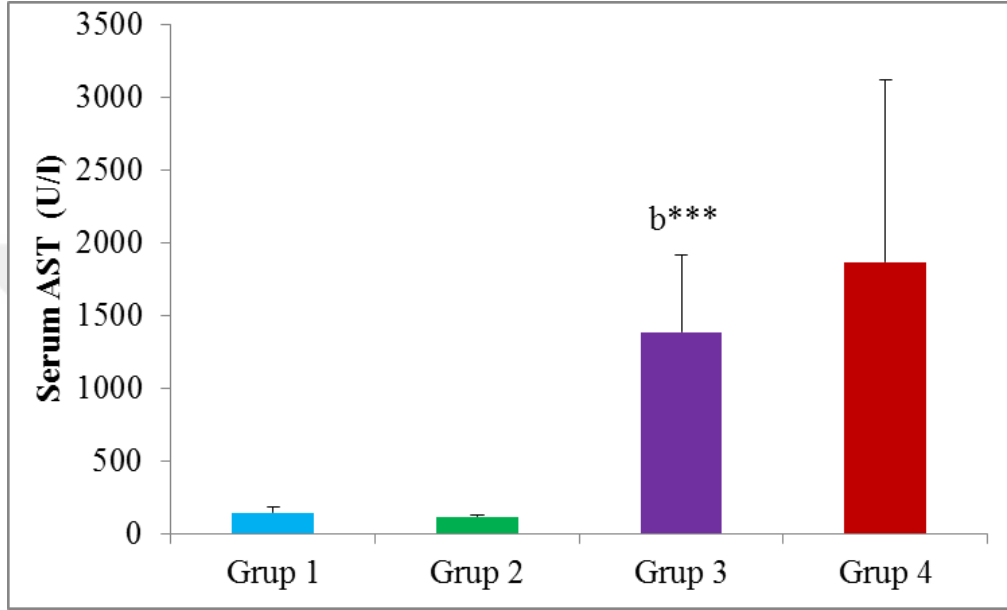
Gruplar arası ortalama serum ALT düzeylerinin dağılımı Şekil 16'da gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama serum ALT düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1'e kıyasla kontrol+relaksin uygulanan Grup 2'de $p=0,012$ ($p<0,05$) düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Yine ortalama serum ALT düzeyleri Grup 1'e kıyasla deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3'te $p=0,001$ ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama serum ALT düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 16. Gruplar arası ortalama serum ALT düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. a: Grup 1 ile Grup 2, b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırmalar; *: $p<0,05$, **: $p<0,01$

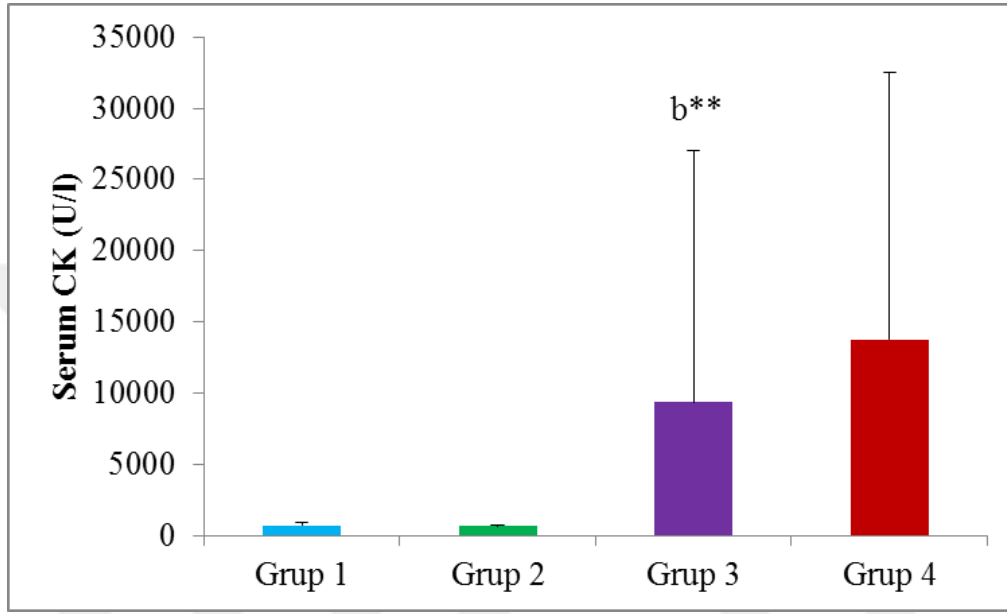
Gruplar arası ortalama serum AST düzeylerinin dağılımı Şekil 17’de gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama serum AST düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobinin akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p<0,001$ düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama serum AST düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 17. Gruplar arası ortalama serum AST düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma;***: $p<0,001$

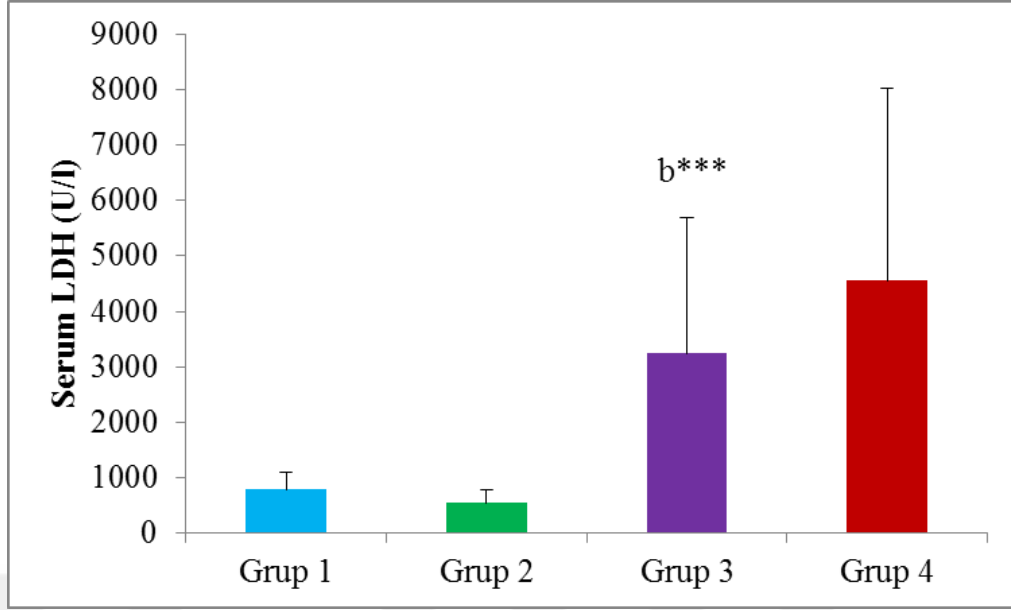
Gruplar arası ortalama serum CK düzeylerinin dağılımı Şekil 18’de gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama serum CK düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p=0,001$ ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama serum CK düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 18. Gruplar arası ortalama serum CK düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma; **: $p<0,01$

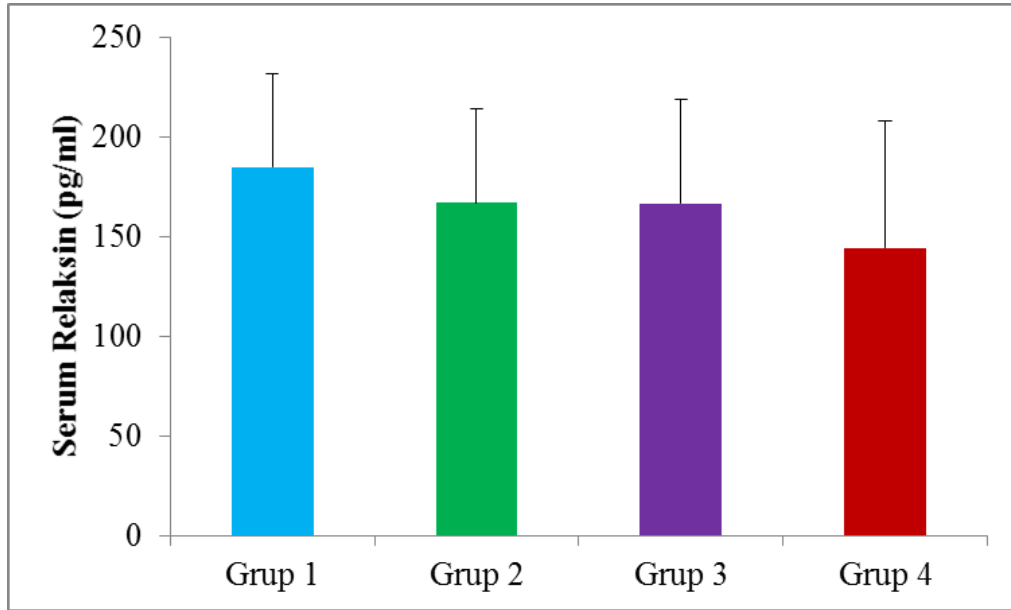
Gruplar arası ortalama serum LDH düzeylerinin dağılımı Şekil 19’da gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama serum LDH düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p<0,001$ düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama serum LDH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 19. Gruplar arası ortalama serum LDH düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma;***: $p < 0,001$

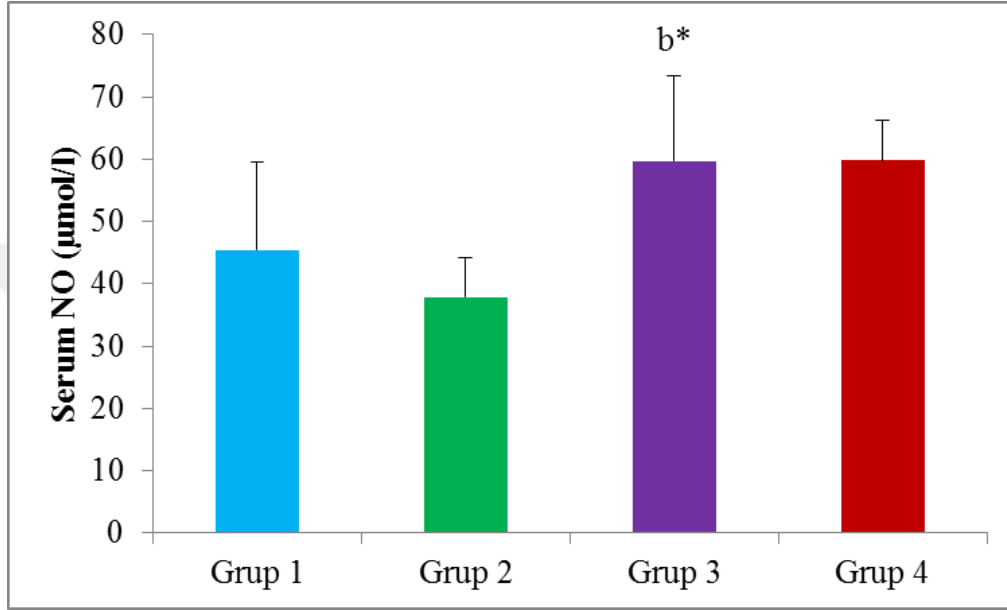
Gruplar arası ortalama serum relaksin düzeylerinin dağılımı Şekil 20’de gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama serum relaksin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0,05$).



Şekil 20. Gruplar arası ortalama serum relaksin düzeylerinin karşılaştırılması

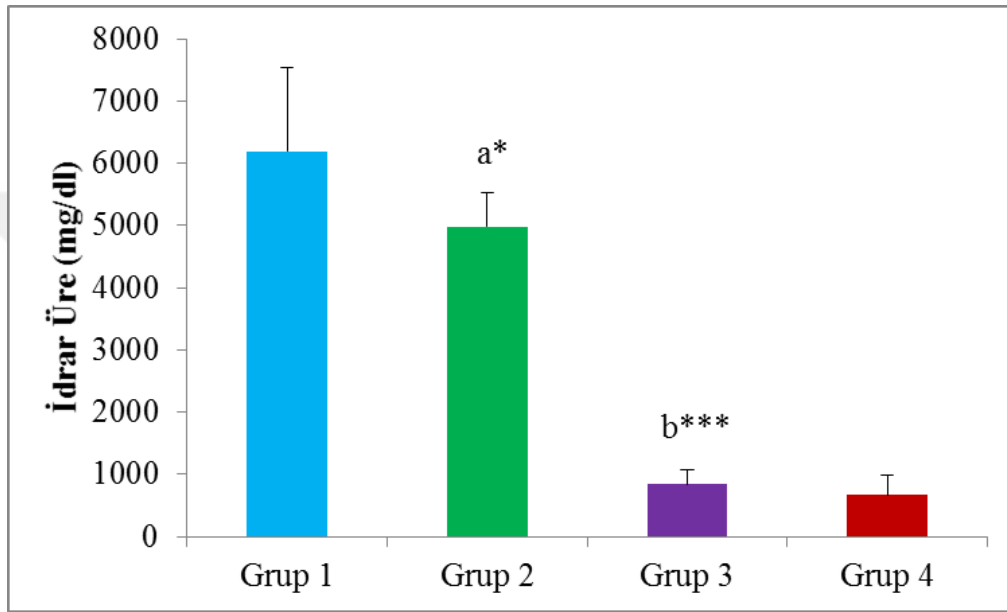
Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin.

Gruplar arası ortalama serum NO düzeylerinin dağılımı Şekil 21’de gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama serum NO düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobinin akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p=0,021$ ($p<0,05$) düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama serum NO düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 21. Gruplar arası ortalama serum NO düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma;*: $p<0,05$

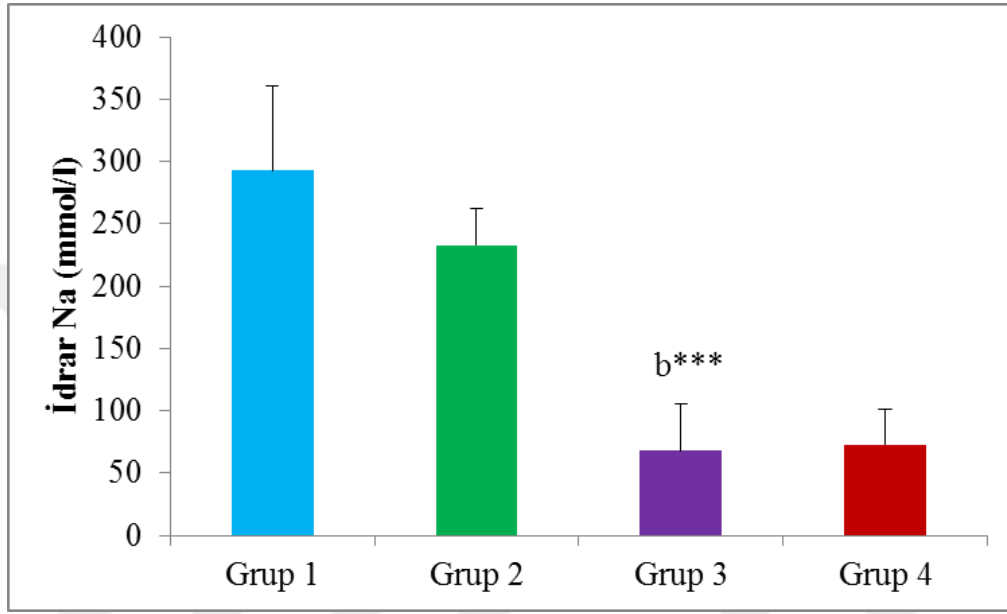
Gruplar arası ortalama idrar üre düzeylerinin dağılımı Şekil 22’de gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama idrar üre düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla kontrol+relaksin uygulanan Grup 2’de $p=0,021$ ($p<0,05$) düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Yine ortalama idrar üre düzeyleri Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p<0,001$ düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama idrar üre düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 22. Gruplar arası ortalama idrar üre düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. a: Grup 1 ile Grup 2, b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırmalar; *: $p<0,05$, ***: $p<0,001$

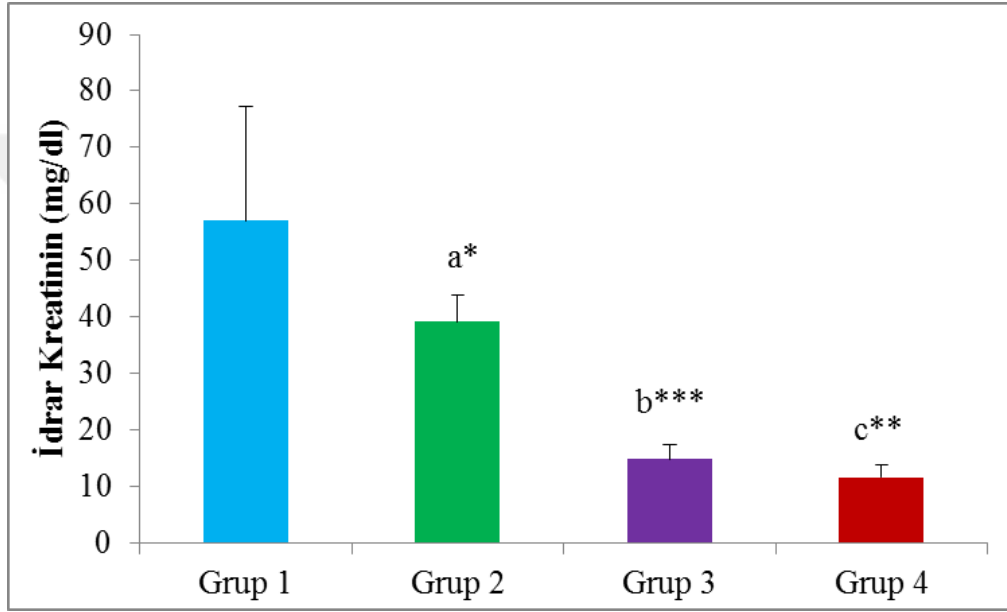
Gruplar arası ortalama idrar sodyum düzeylerinin dağılımı Şekil 23'te gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama idrar sodyum düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1'e kıyasla deneysel miyoglobinin akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3'te $p < 0,001$ düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama idrar sodyum düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0,05$).



Şekil 23. Gruplar arası ortalama idrar sodyum düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma;***: $p < 0,001$

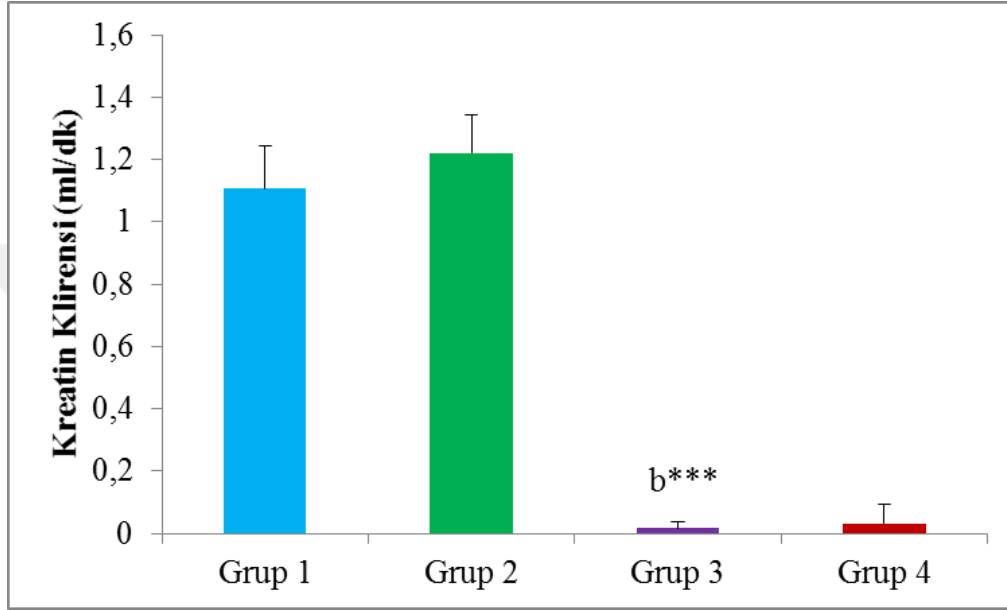
Gruplar arası ortalama idrar kreatinin düzeylerinin dağılımı Şekil 24'te gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama idrar kreatinin düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1'e kıyasla kontrol+relaksin uygulanan Grup 2'de $p=0,036$ ($p<0,05$) düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Yine ortalama idrar kreatinin düzeyleri Grup 1'e kıyasla deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3'te $p<0,001$ düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Grup 3'e kıyasla miyoglobinürik akut böbrek hasarı oluşturulup relaksin uygulanan Grup 4'te $p=0,009$ ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı düşük bulundu.



Şekil 24. Gruplar arası ortalama idrar kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması

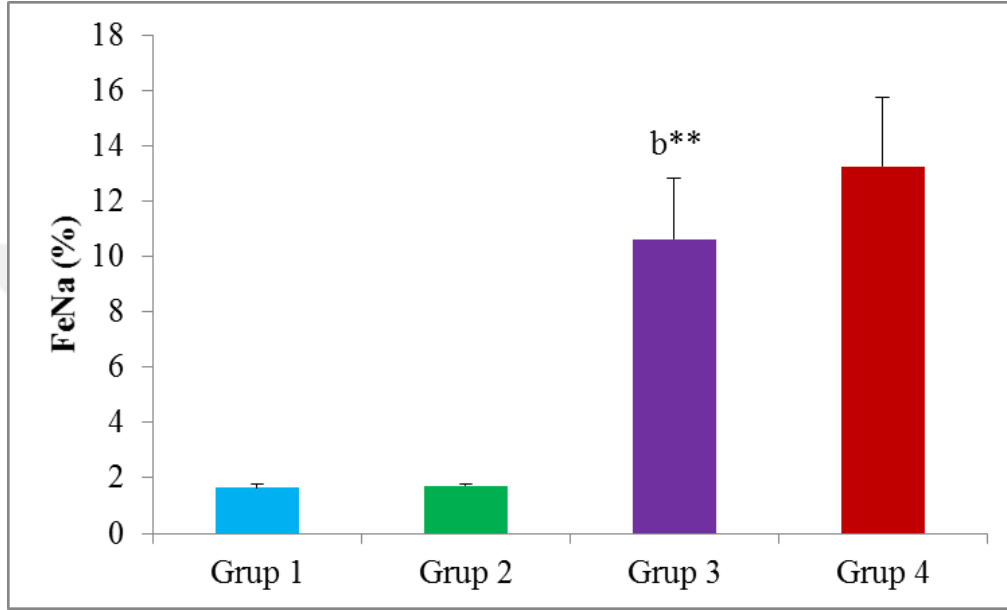
Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. a: Grup 1 ile Grup 2, b: Grup 1 ile Grup 3, c: Grup 3 ile Grup 4, arasındaki karşılaştırmalar; *: $p<0,05$, **: $p<0,01$, ***: $p<0,001$

Gruplar arası ortalama kreatinin klirensi düzeylerinin dağılımı Şekil 25'te gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama kreatinin klirensi düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1'e kıyasla deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3'te $p < 0,001$ düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama kreatinin klirensi düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0,05$).



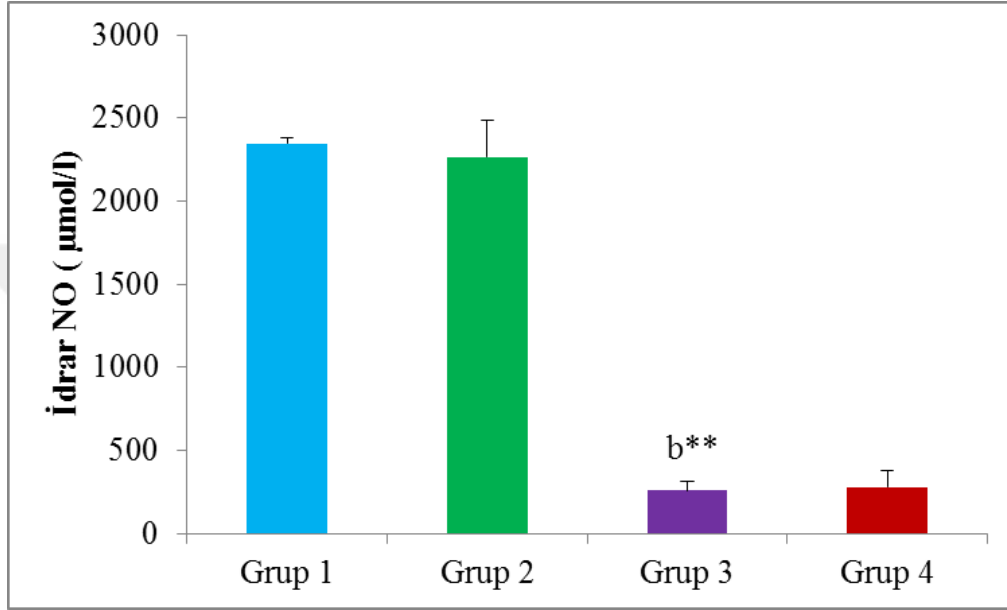
Şekil 25. Gruplar arası ortalama kreatinin klirensi düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3;***: $p < 0,001$

Gruplar arası ortalama FeNa düzeylerinin dağılımı Şekil 26’da gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama FeNa düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p=0,001$ ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama FeNa düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



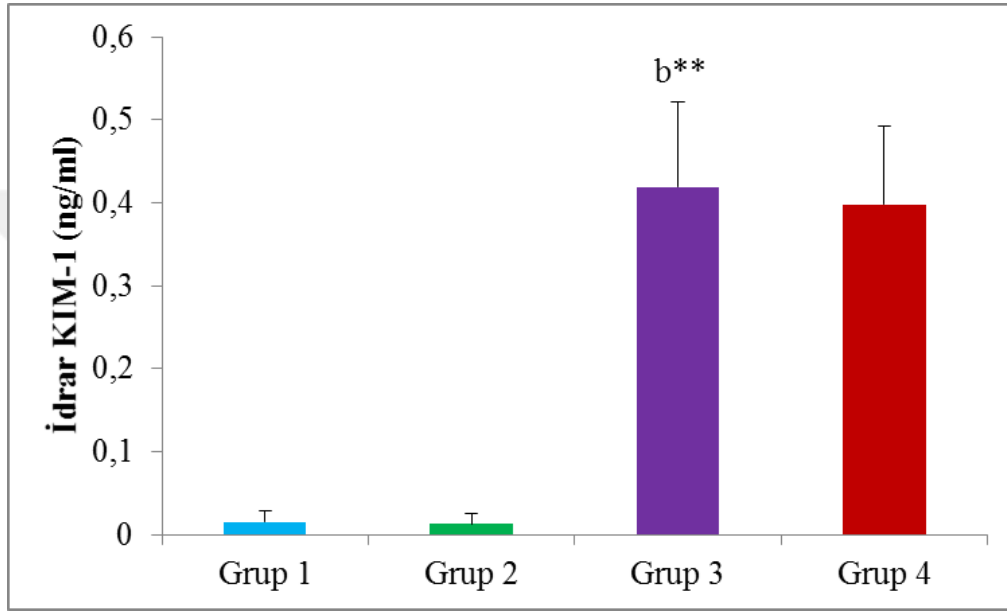
Şekil 26. Gruplar arası ortalama FeNa (%) düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3, **: $p<0,01$

Gruplar arası ortalama idrar nitrik oksit düzeylerinin dağılımı Şekil 27’de gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama idrar nitrik oksit düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p=0,001$ ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama idrar nitrik oksit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



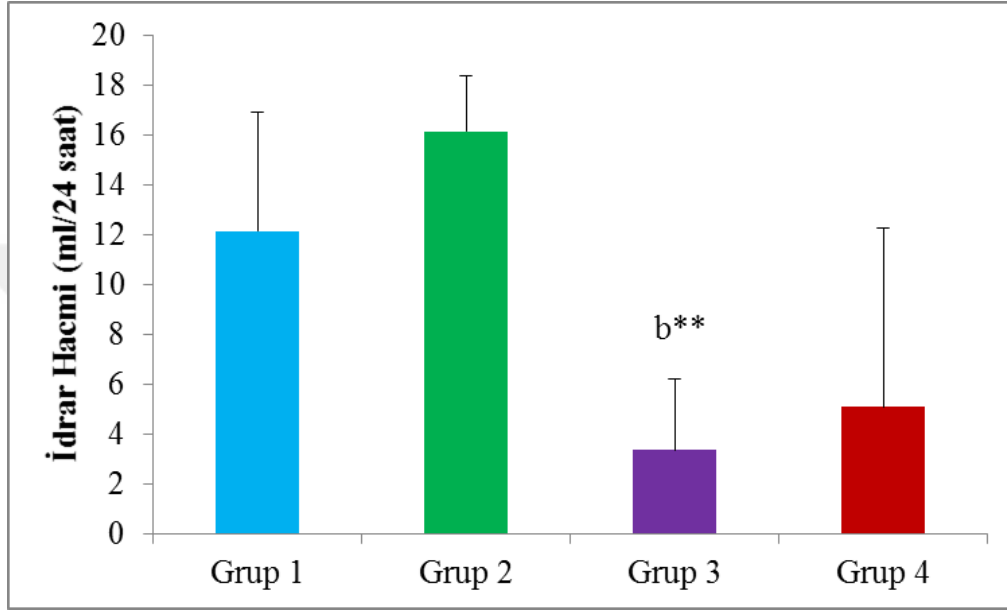
Şekil 27. Gruplar arası ortalama idrar nitrik oksit düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma; **: $p<0,01$

Gruplar arası ortalama idrar böbrek hasar molekülü-1 düzeylerinin dağılımı Şekil 28’de gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama idrar böbrek hasar molekülü-1 düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p=0,001$ ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama idrar böbrek hasar molekülü-1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 28. Gruplar arası ortalama idrar KIM-1 düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma; **: $p<0,01$

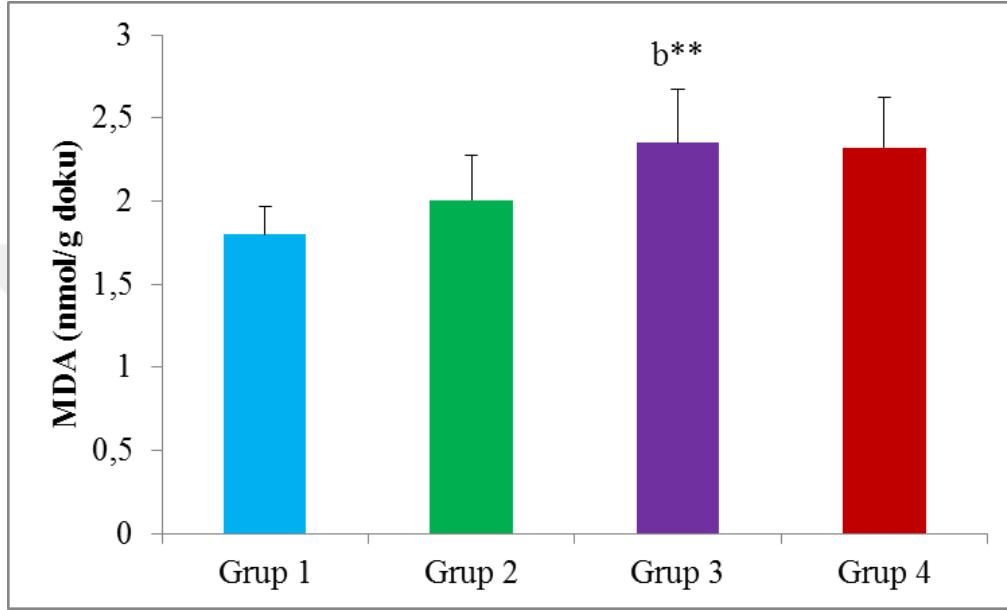
Gruplar arası ortalama idrar hacmi düzeylerinin dağılımı Şekil 29'da gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama idrar hacmi düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1'e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3'te $p=0,001$ ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama idrar hacmi düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 29. Gruplar arası ortalama idrar hacmi düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma; **: $p<0,01$

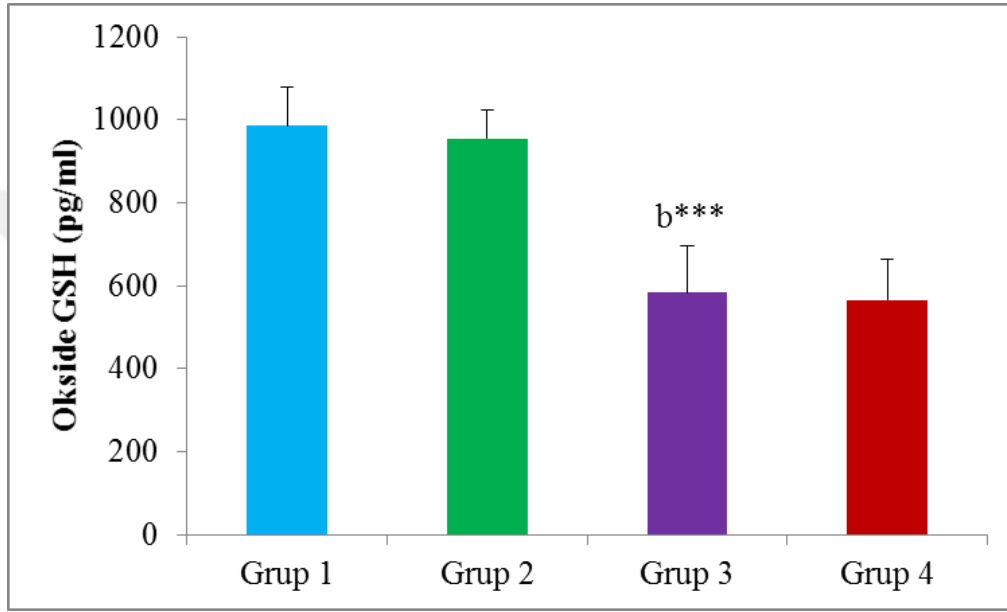
Gruplar arası ortalama böbrek dokusu MDA düzeylerinin dağılımı Şekil 30'da gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama böbrek MDA düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1'e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3'te $p=0,001$ ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama böbrek MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 30. Gruplar arası ortalama böbrek MDA düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma; **: $p<0,01$

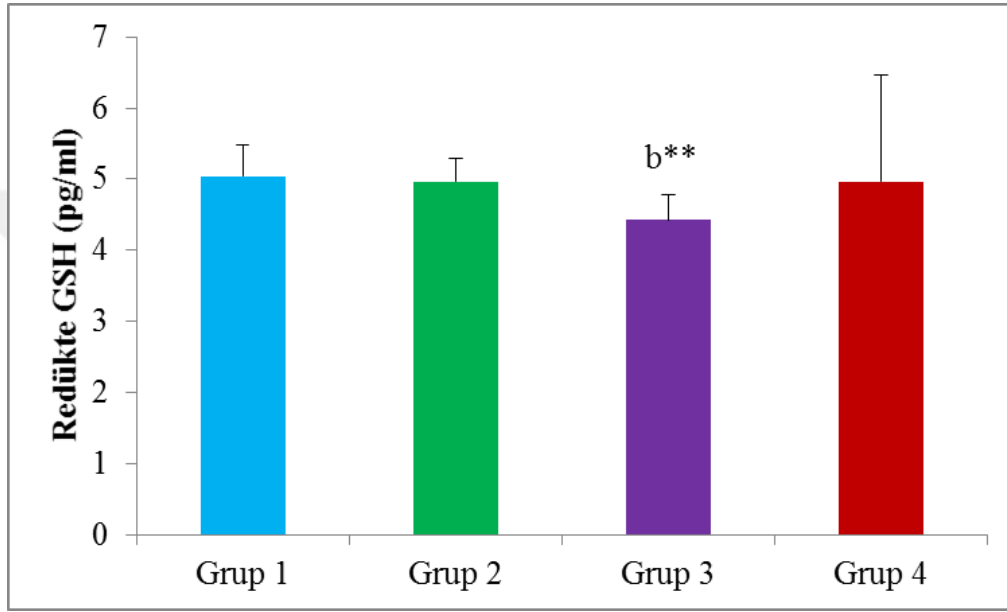
Gruplar arası ortalama böbrek dokusu okside glutasyon düzeylerinin dağılımı Şekil 31’de gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama böbrek okside glutasyon düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p<0,001$ düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama böbrek okside glutasyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 31. Gruplar arası ortalama böbrek okside glutasyon düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma;***: $p<0,001$

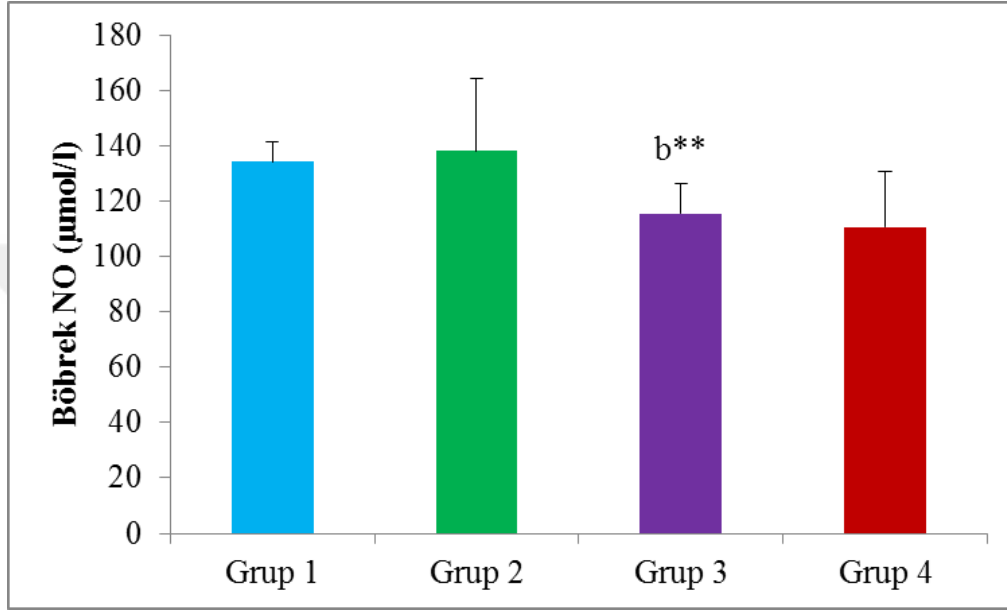
Gruplar arası ortalama böbrek dokusu redükte glutasyon düzeylerinin dağılımı Şekil 32’de gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama böbrek redükte glutasyon düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p=0,006$ ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama böbrek redükte glutasyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 32. Gruplar arası ortalama böbrek redükte glutasyon düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma; **: $p<0,01$

Gruplar arası ortalama böbrek dokusu nitrik oksit düzeylerinin dağılımı Şekil 33'te gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama böbrek nitrik oksit düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1'e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3'te $p=0,003$ ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama böbrek nitrik oksit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 33. Gruplar arası ortalama böbrek NO düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma; **: $p<0,01$

HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

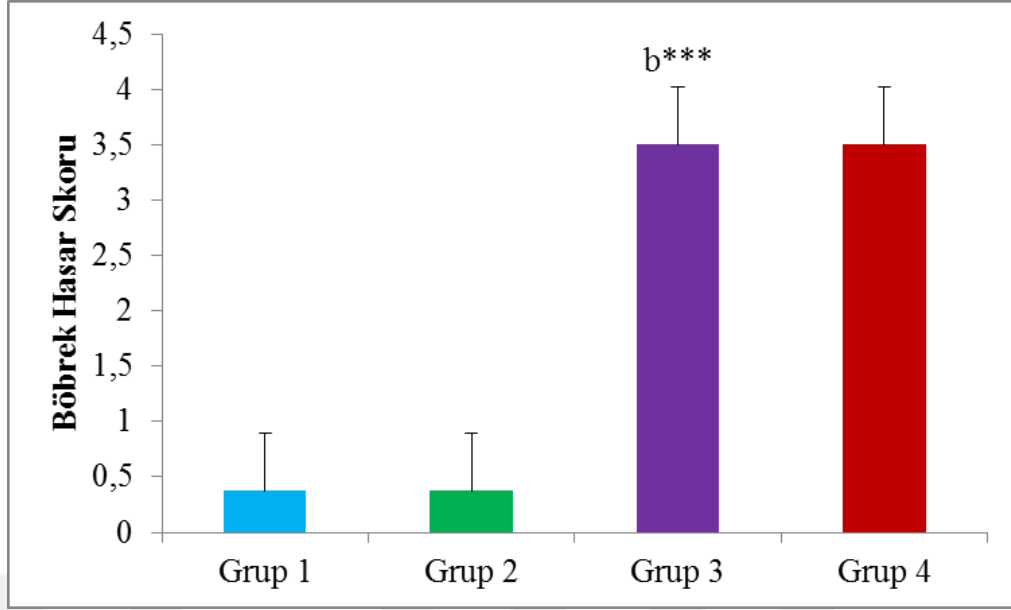
Tüm grupların böbrek dokusu örneklerine ait histopatolojik verilerinin ortalama \pm standart sapma sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri Tablo 4'te gösterilmiştir. Tablo 4'te gösterildiği gibi böbrek dokusunda Grup 1'e kıyasla Grup 3'te böbrek hasar skoru ve kast düzeyleri anlamlı yüksek bulundu.

Tablo 4. Böbrek dokusunda histopatolojik değerlendirmelere ilişkin istatistiksel sonuçlar

Parametreler	1.Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	P
Böbrek Hasar Skoru	0,38 \pm 0,52	0,38 \pm 0,52	3,50 \pm 0,53	3,50 \pm 0,53	G ₁ -G ₂ =1,000 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =1,000
Kast %	0,50 \pm 0,54	0,38 \pm 0,52	78,00 \pm 6,33	77,00 \pm 6,75	G ₁ -G ₂ =0,626 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =0,702

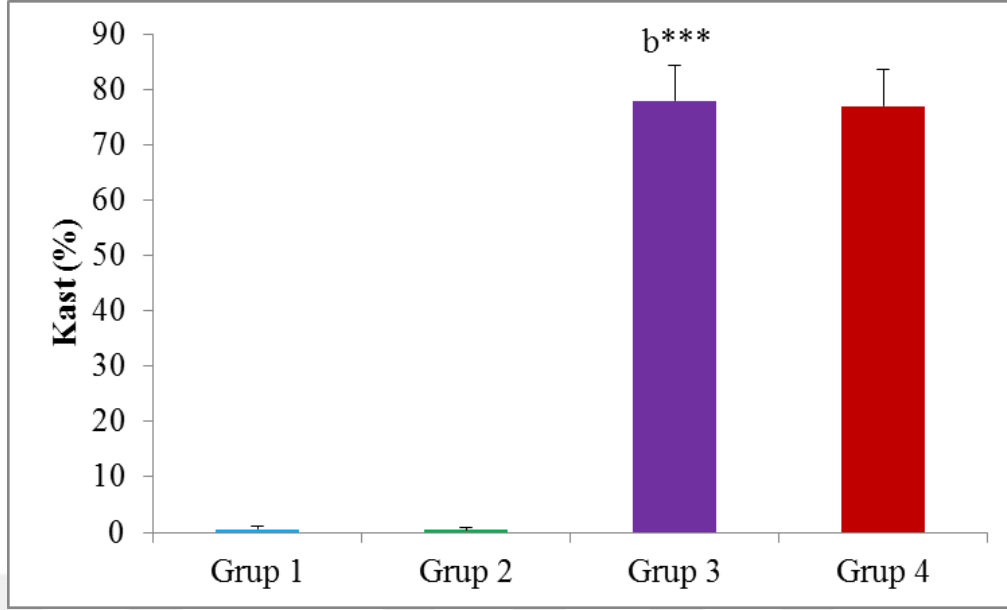
P: İstatistiksel olarak gruplar arası farklılıklar Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır.

Gruplar arası ortalama böbrek hasar skoru düzeylerinin dağılımı Şekil 34'te gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama böbrek hasar skoru düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1'e kıyasla deneysel miyoglobinin akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3'te $p<0,001$ düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama böbrek hasar skoru düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



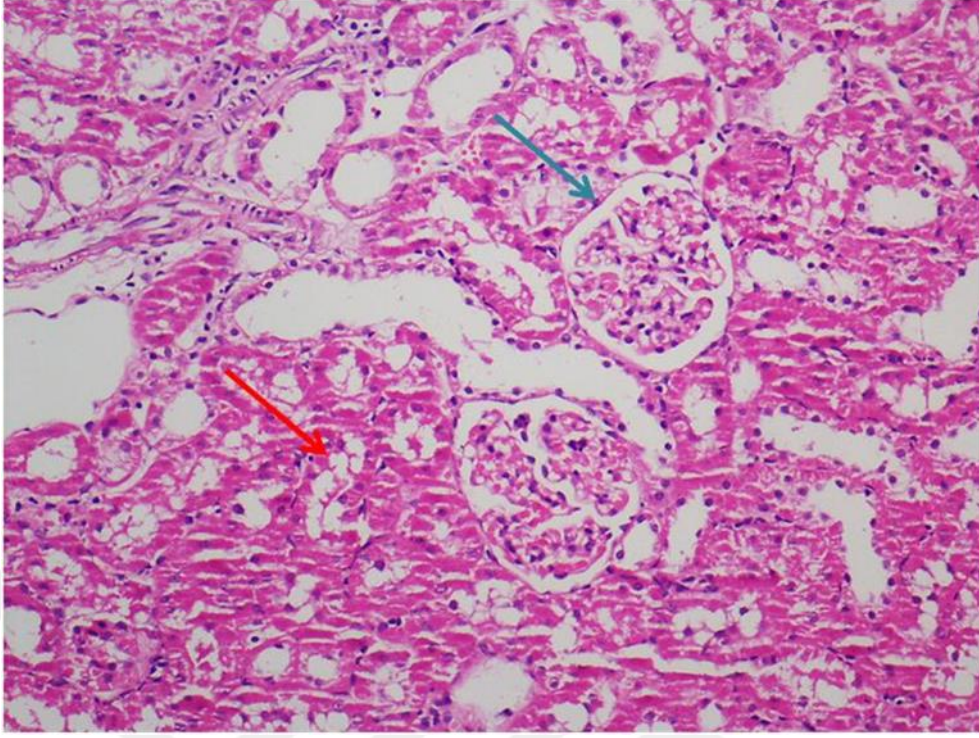
Şekil 34. Gruplar arası ortalama böbrek hasar skoru düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma;***: $p < 0,001$

Gruplar arası ortalama böbrek dokusu kast düzeylerinin dağılımı Şekil 35'te gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu kast düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1'e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3'te $p < 0,001$ düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama böbrek dokusu kast düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0,05$).

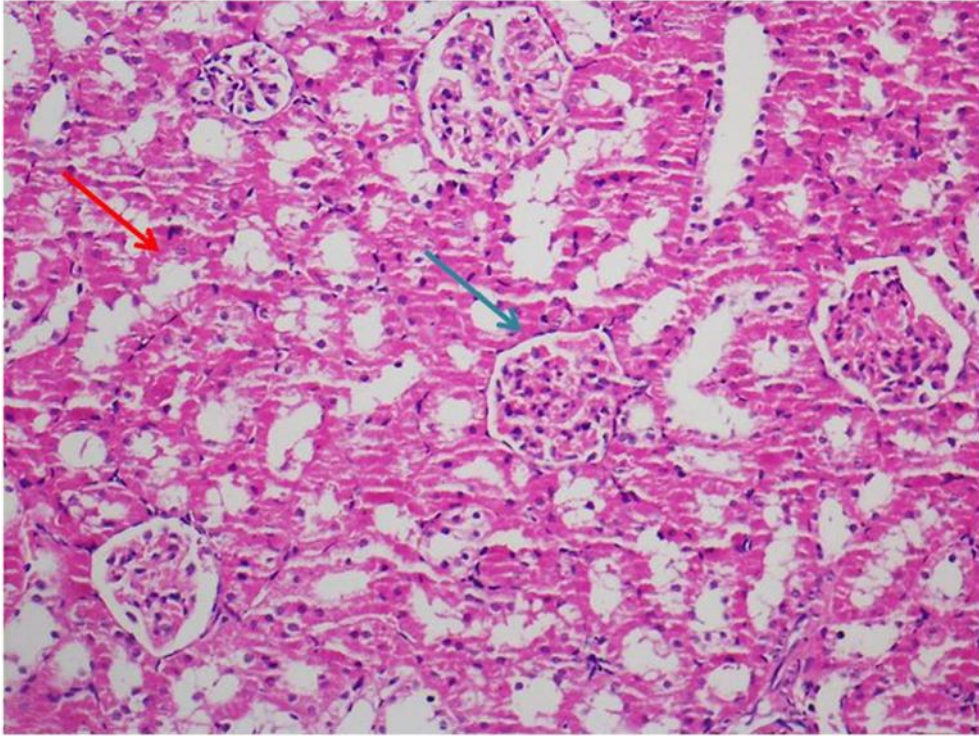


Şekil 35. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu kast düzeylerinin karşılaştırılması
 Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3,***: p<0,001

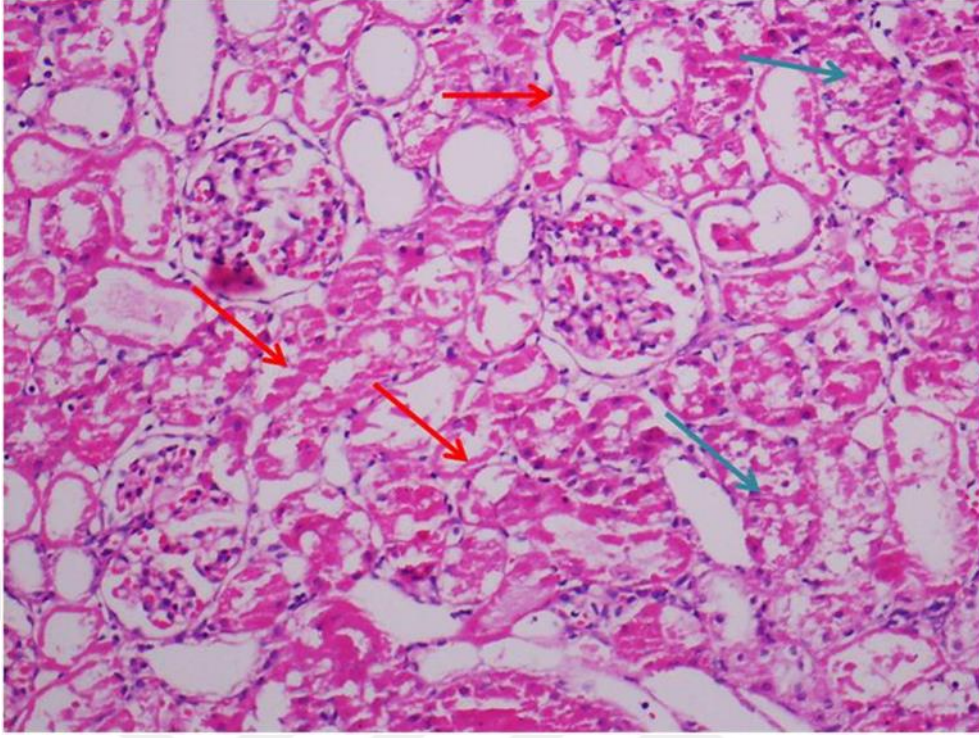
Tüm hematoksilen eozin ile boyanmış böbrek kesitleri ışık mikroskobu altında incelenmiş ve hasarın derecesi değerlendirilmiştir. Kontrol grubunun (Grup 1) ışık mikroskobisinde tübül ve glomerül yapılarının normal görünümde olduğu (Şekil 36), Kontrol+Relaksin verilen Grup 2’de ise tübül ve glomerül yapılarının normal görünümde olup nekroz veya kast oluşumu gözlemlenmemiştir (Şekil 37). Akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’ün ışık mikroskobisinde tübül epitel hücrelerinde yaygın nekroz, tübüler dilatasyon ve vakuol oluşumu gözlenirken, tübüler lümende ise kast birikimi gözlemlenmiştir (Şekil 38). Akut böbrek hasarı oluşturulup relaksin ile tedavi edilen Grup 4’te de Grup 3’e benzer şekilde tübül epitelinde yaygın nekroz, tübüler dilatasyon ve vakuol oluşumu gözlenirken, tübüler lümende kast birikimi gözlemlenmiştir (Şekil 39).



Şekil 36. Grup 1'in böbrek kesiti (HEx200)
Mavi ok: glomerül, kırmızı ok: proksimal tübüller

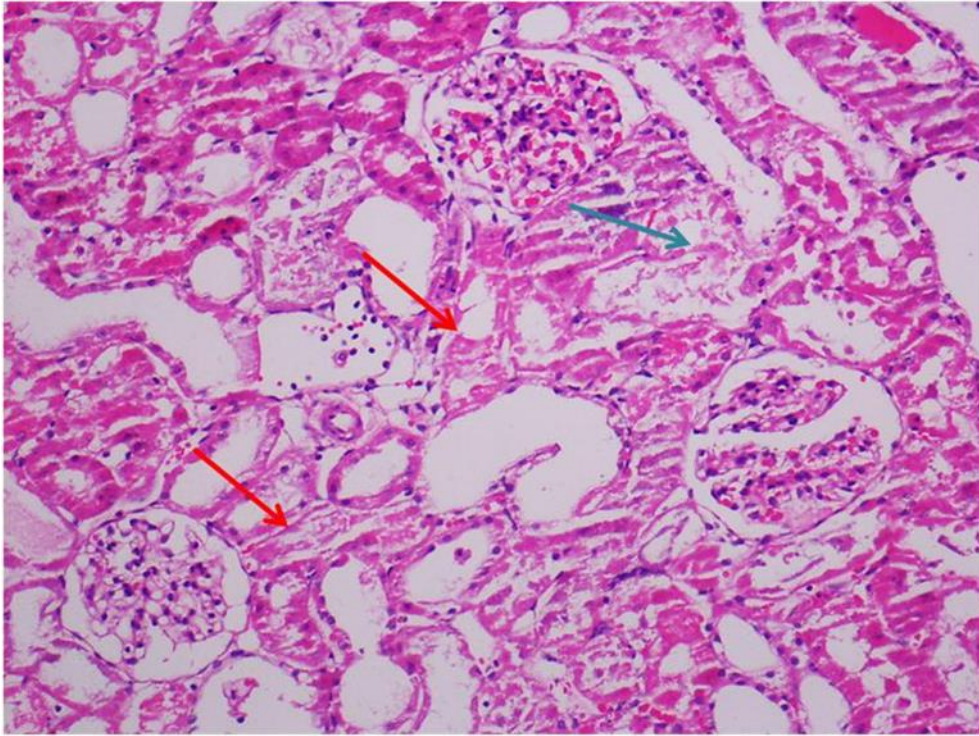


Şekil 37. Grup 2'nin böbrek kesiti (HEx200)
Mavi ok: glomerül, kırmızı ok: proksimal tübüller



Şekil 38. Grup 3'ün böbrek kesiti (HEx200)

Kırmızı oklar: tübül epitelinde yaygın nekroz, mavi oklar: tübül lümeninde kast birikimi



Şekil 39. Grup 4'ün böbrek kesiti (HEx200)

Kırmızı oklar: tübül epitelinde yaygın nekroz, mavi ok: Tübül lümeninde kast birikimi

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Böbrek Dokusunda eNOS İmmünoreaktivitesi

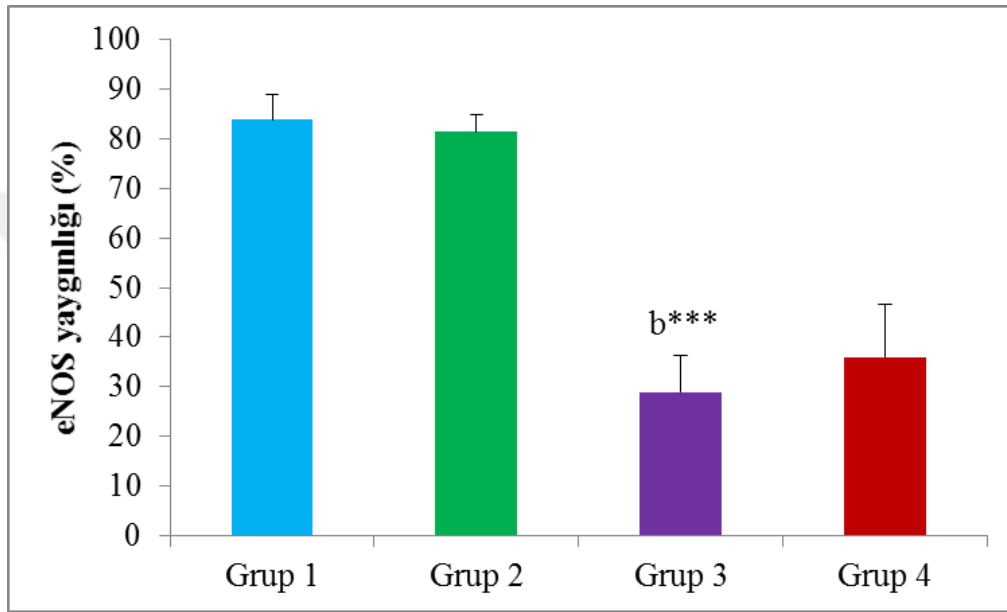
Tüm grupların böbrek dokusu örneklerine ait eNOS immünoreaktivitesi değerlendirmelerine ilişkin verilerinin ortalama \pm standart sapma sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri Tablo 5'te gösterilmiştir. Tablo 5'te gösterildiği gibi, Grup 1'e kıyasla Grup 3'te eNOS yaygınlık ve eNOS total skor düzeyleri anlamlı düşük bulundu.

Tablo 5. Böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi değerlendirmelerine ilişkin istatistiksel sonuçlar

Parametreler	1.Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	P
eNOS yaygınlığı	83,75 \pm 5,18	81,25 \pm 3,54	29,00 \pm 7,38	36,00 \pm 10,75	G ₁ -G ₂ =0,264 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =0,115
eNOS yoğunluğu	3,63 \pm 1,77	3,00 \pm 0,00	2,60 \pm 0,70	2,30 \pm 0,68	G ₁ -G ₂ =0,317 G ₁ -G ₃ =0,052 G ₃ -G ₄ =0,426
eNOS total skor	251,25 \pm 15,53	232,50 \pm 26,59	72,00 \pm 13,17	77,00 \pm 12,52	G ₁ -G ₂ =0,113 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =0,397

P: İstatistiksel olarak gruplar arası farklılıklar Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır.

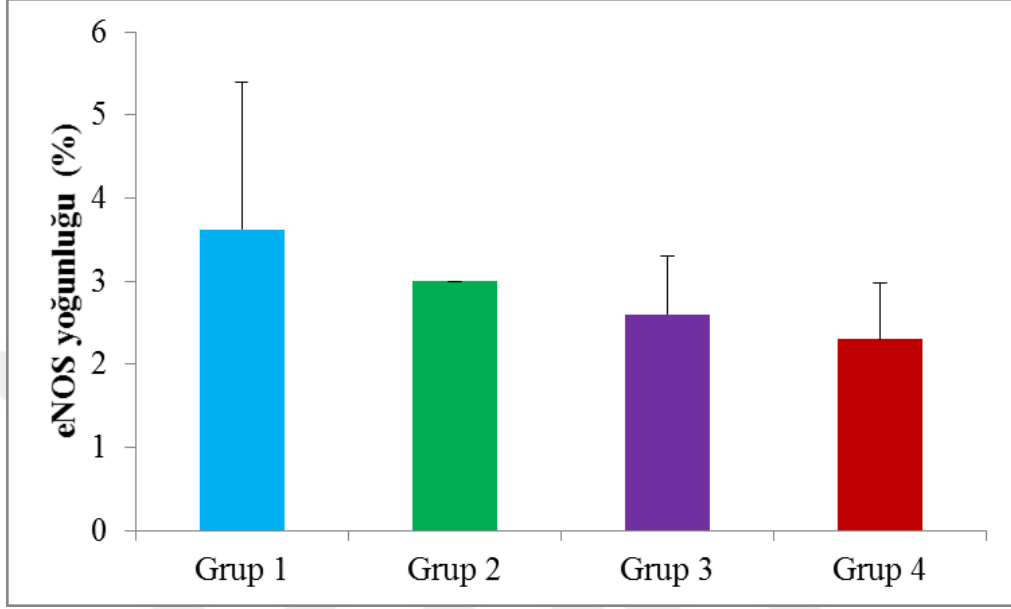
Gruplar arası ortalama böbrek dokusu eNOS yaygınlığı düzeylerinin dağılımı Şekil 40'ta gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu eNOS yaygınlığı düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1'e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3'te $p<0,001$ düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama böbrek dokusu eNOS yaygınlığı düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 40. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu eNOS yaygınlığı düzeylerinin karşılaştırılması

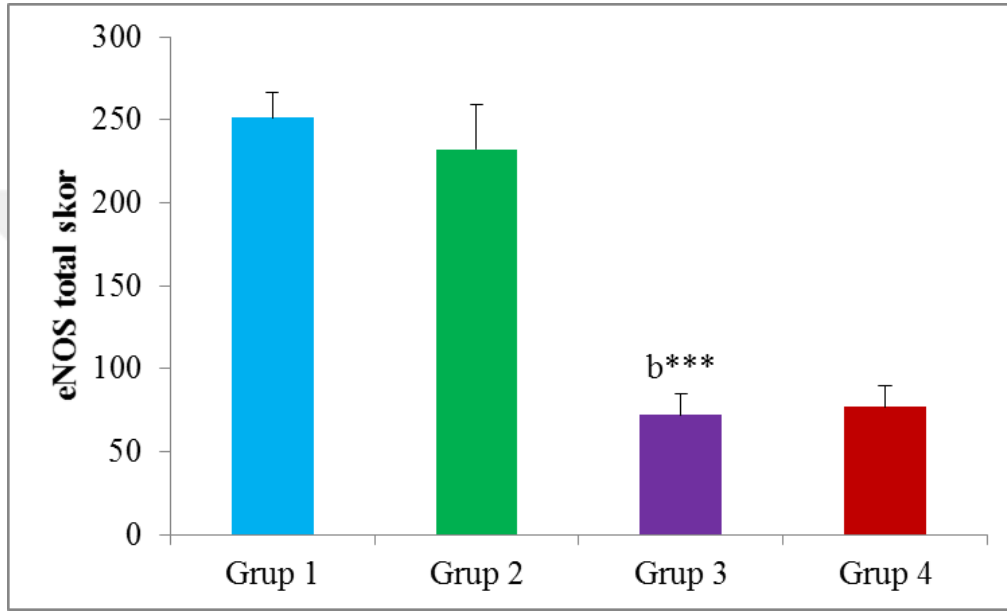
Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma;***: $p<0,001$

Gruplar arası ortalama b6brek dokusu eNOS yoğunluğu d6zeylerinin dağılımını Şekil 41’de g6sterilmiştir. Gruplar arası ortalama b6brek dokusu eNOS yoğunluğu d6zeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark g6zlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 41. Gruplar arası ortalama b6brek dokusu eNOS yoğunluğu d6zeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin.

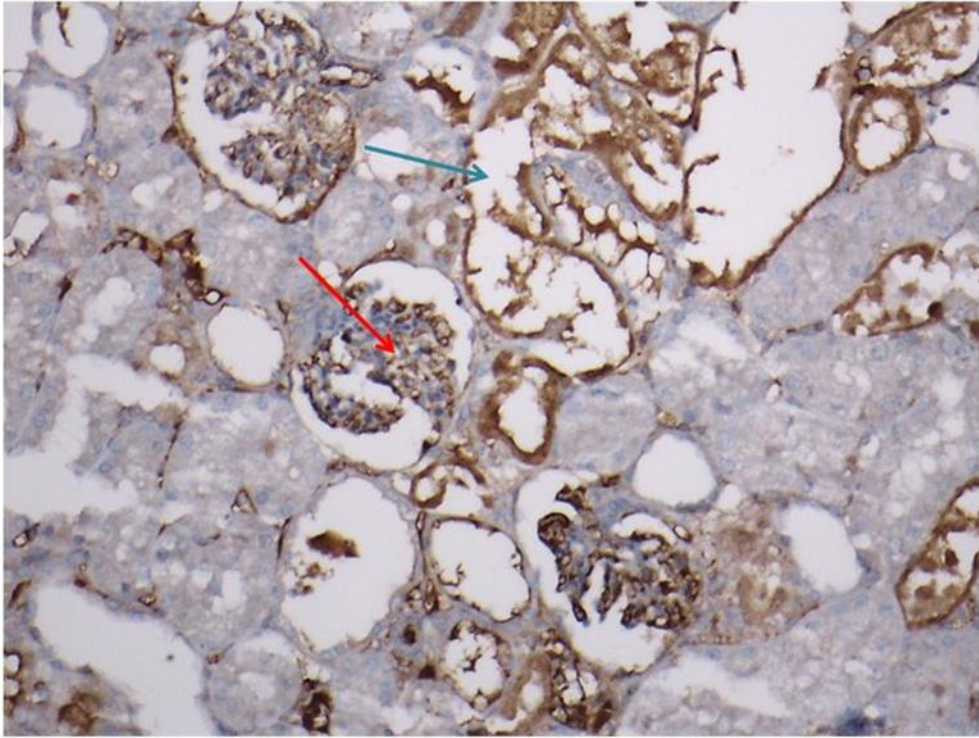
Gruplar arası ortalama böbrek dokusu eNOS total skor düzeylerinin dağılımı Şekil 42’de gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu eNOS total skor düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p<0,001$ düzeyinde anlamlı düşük bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama böbrek dokusu eNOS total skor düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



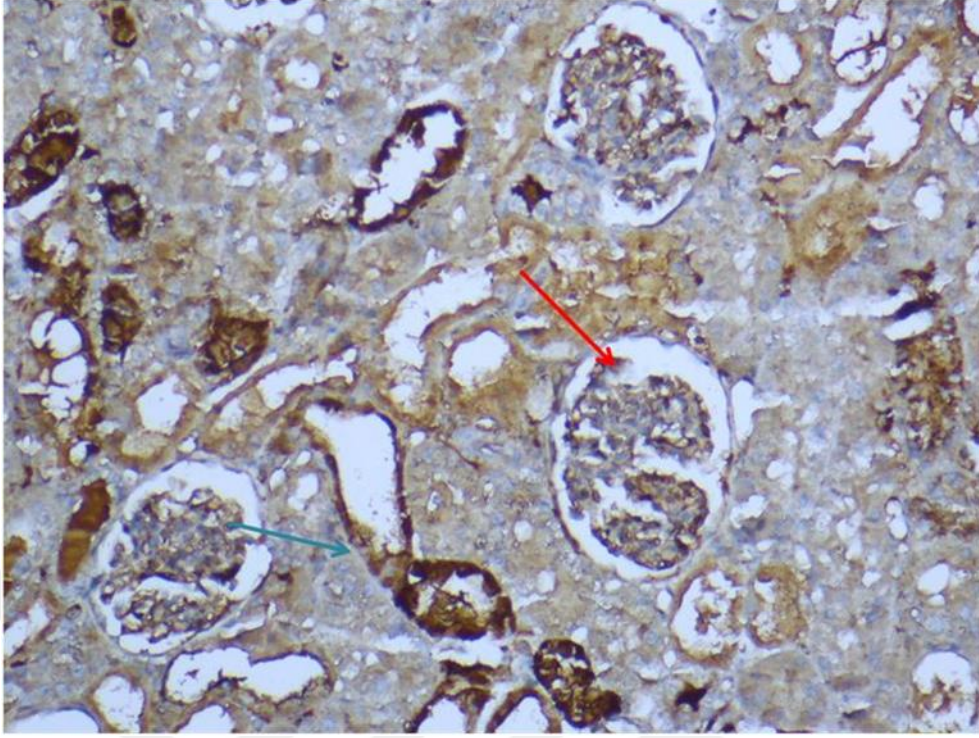
Şekil 42. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu eNOS total skor düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma;***: $p<0,001$

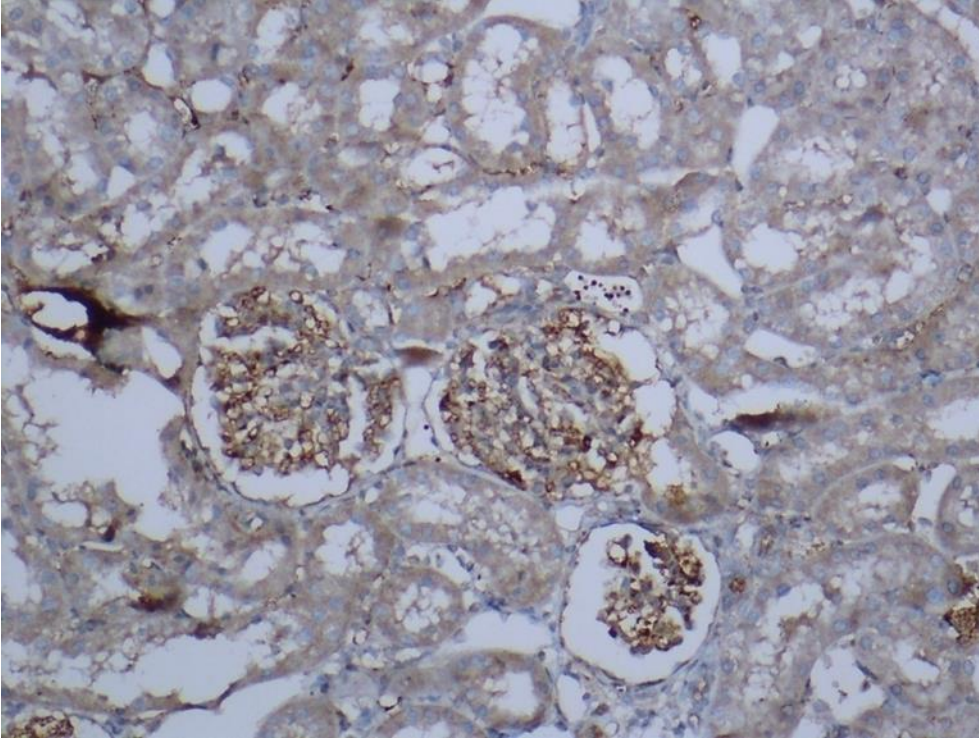
Sıçanların böbrek kesitleri immünohistokimyasal olarak eNOS antikoruna ile boyandı ve mikroskopisi değerlendirildi. İmmünohistokimyasal değerlendirmeler hedef hücrelerin boyanıp boyanmamasına ve boyanmanın yoğunluk ve yaygınlığına göre yapılmıştır. Gruplar incelendiğinde Grup 1 (Şekil 43) ve Grup 2 (Şekil 44)'nin glomerulus ve kıvrımlı distal tübüllerinde kuvvetli boyanma görülürken, Grup 3 (Şekil 45)'te glomerulus ve distal tübüllerde boyamanın yaygınlık ve yoğunluğunda azalma olduğu görülmüştür. Grup 4 (Şekil 46)'te ise Grup 3'e benzer şekilde glomerulus ve distal tübüllerde boyamanın yaygınlık ve yoğunluğunda azalma görüldü.



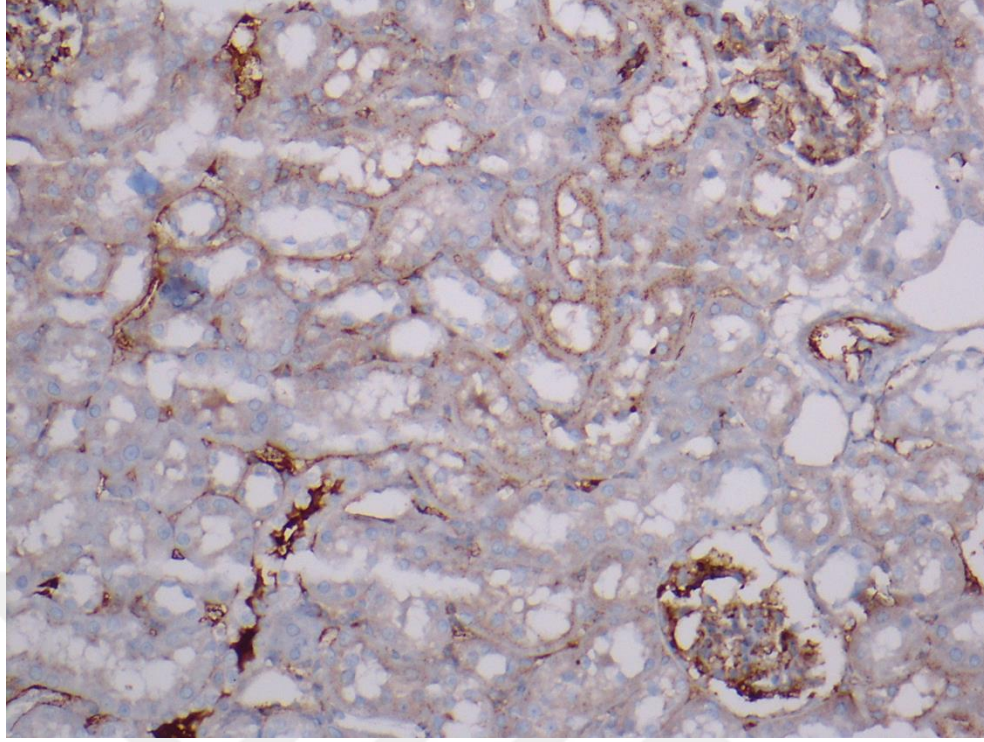
Şekil 43. Grup 1'in böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (x200)
Kırmızı ok: Glomerüller kuvvetli boyanma, mavi ok: distal kıvrımlı tübüllerde kuvvetli boyanma



Şekil 44. Grup 2'nin böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (x200)
Glomerüller ve distal kıvrımlı tübüllerde (ok) kuvvetli boyanma



Şekil 45. Grup 3'ün böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (x200)
Boyanma yaygınlık ve yoğunluğunda azalma



Şekil 46. Grup 4'ün böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (x200)
Boyama yaygınlık ve yoğunluğunda azalma

Böbrek Dokusunda iNOS İmmünoreaktivitesi

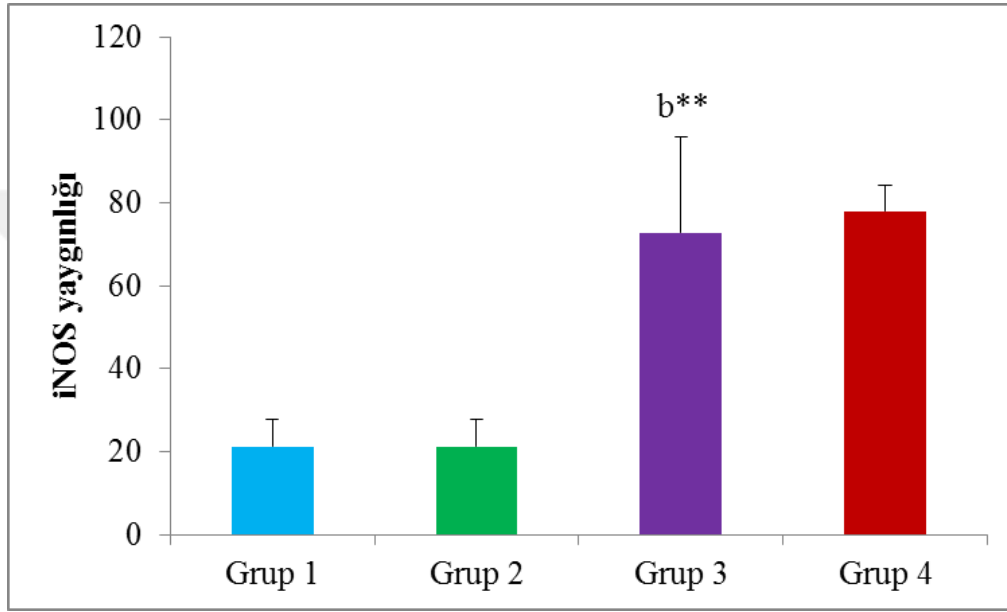
Tüm grupların böbrek dokusu örneklerine ait iNOS immünoreaktivitesi değerlendirmelerine ilişkin verilerinin ortalama \pm standart sapma sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri Tablo 6'da gösterilmiştir. Tablo 6'da gösterildiği gibi, Grup 1'e kıyasla Grup 3'te iNOS yaygınlık, iNOS yoğunluk ve iNOS total skor düzeyleri anlamlı yüksek bulundu.

Tablo 6. Böbrek dokusunda iNOS immünoreaktivitesi değerlendirmelerine ilişkin istatistiksel sonuçlar

Parametreler	1.Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	P
iNOS yaygınlığı	21,25 \pm 6,41	21,25 \pm 6,41	72,80 \pm 23,25	78,00 \pm 6,33	G ₁ -G ₂ =1,000 G ₁ -G ₃ =0,003 G ₃ -G ₄ =0,789
iNOS yoğunluğu	2,00 \pm 0,54	2,00 \pm 0,76	3,00 \pm 0,00	3,00 \pm 0,00	G ₁ -G ₂ =1,000 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =1,000
iNOS total skor	40,00 \pm 9,26	38,75 \pm 9,91	240,00 \pm 14,14	234,00 \pm 18,97	G ₁ -G ₂ =0,680 G ₁ -G ₃ <0,001 G ₃ -G ₄ =0,399

P: İstatistiksel olarak gruplar arası farklılıklar Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır.

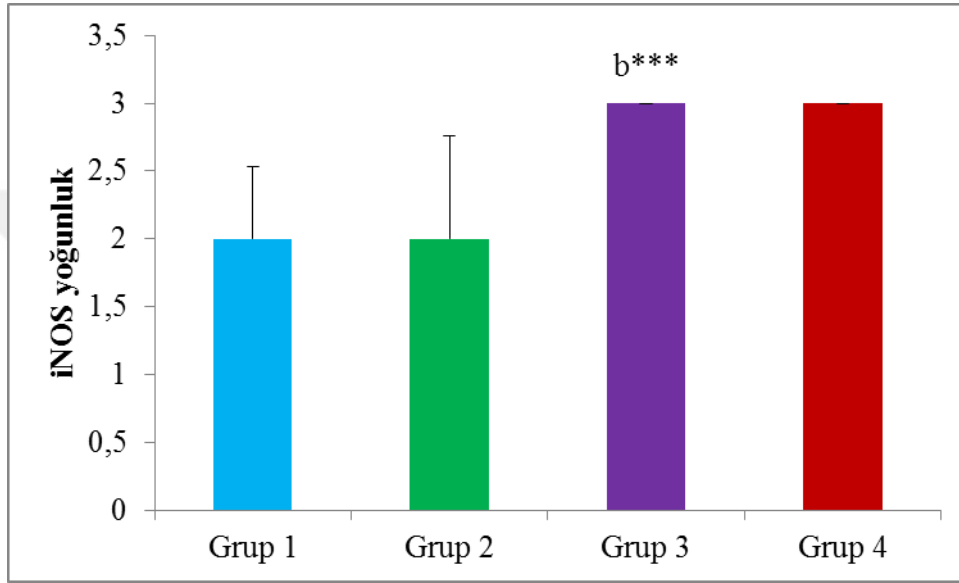
Gruplar arası ortalama böbrek dokusu iNOS yaygınlık düzeylerinin dağılımı Şekil 47’de gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu iNOS yaygınlık düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p=0,003$ ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama böbrek dokusu iNOS yaygınlık düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 47. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu iNOS yaygınlığı düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma; **: $p<0,01$

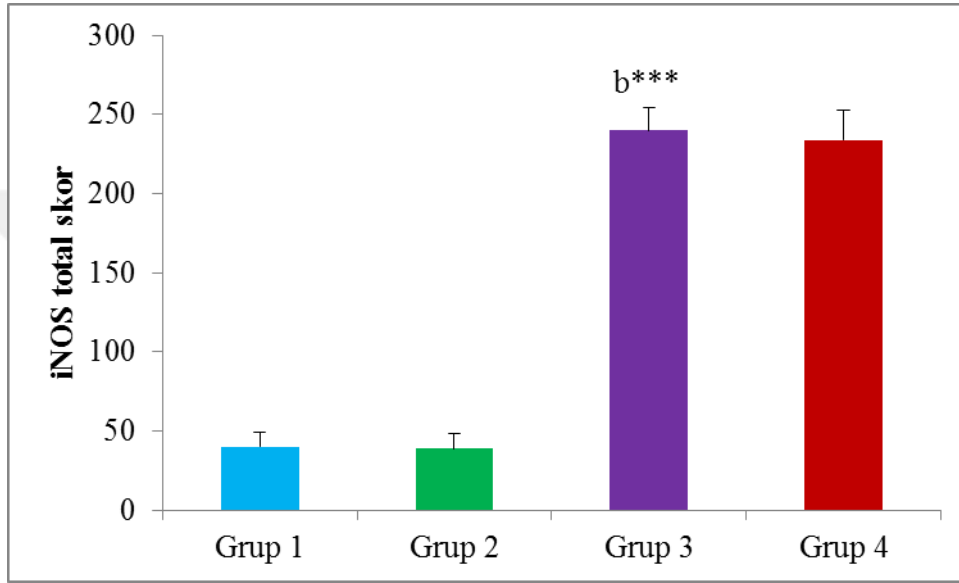
Gruplar arası ortalama böbrek dokusu iNOS yoğunluk düzeylerinin dağılımı Şekil 48’de gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu iNOS yoğunluk düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p<0,001$ düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama böbrek dokusu iNOS yoğunluk düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 48. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu iNOS yoğunluk düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma;***: $p<0,001$

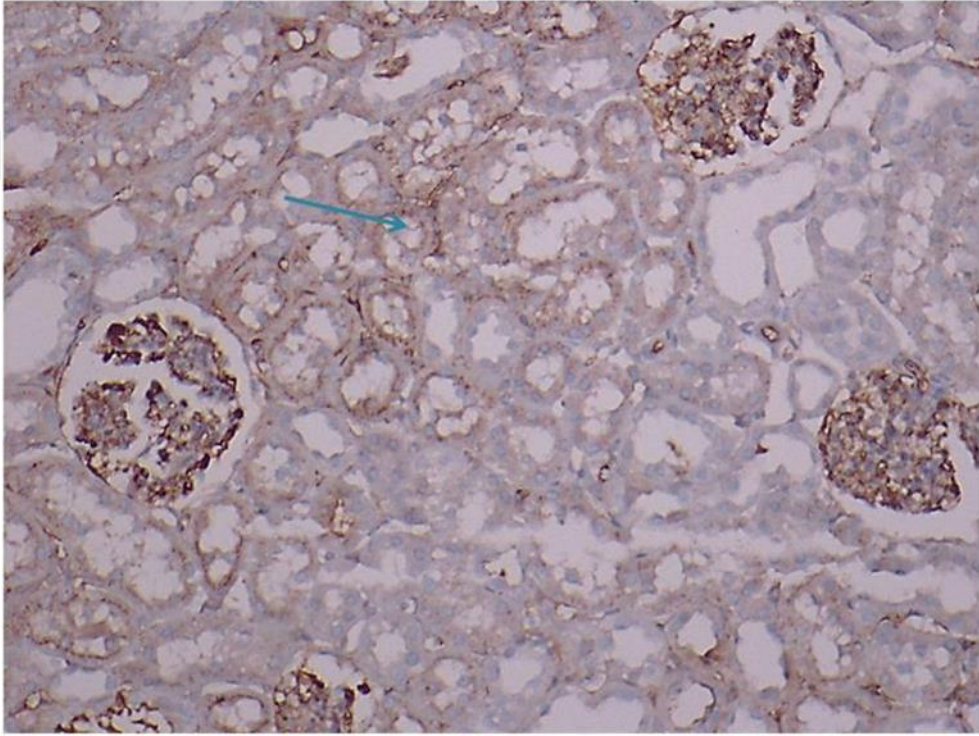
Gruplar arası ortalama böbrek dokusu iNOS total skor düzeylerinin dağılımı Şekil 49’da gösterilmiştir. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu iNOS total skor düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu Grup 1’e kıyasla deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı oluşturulan Grup 3’te $p<0,001$ düzeyinde anlamlı yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ortalama böbrek dokusu iNOS total skor düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$).



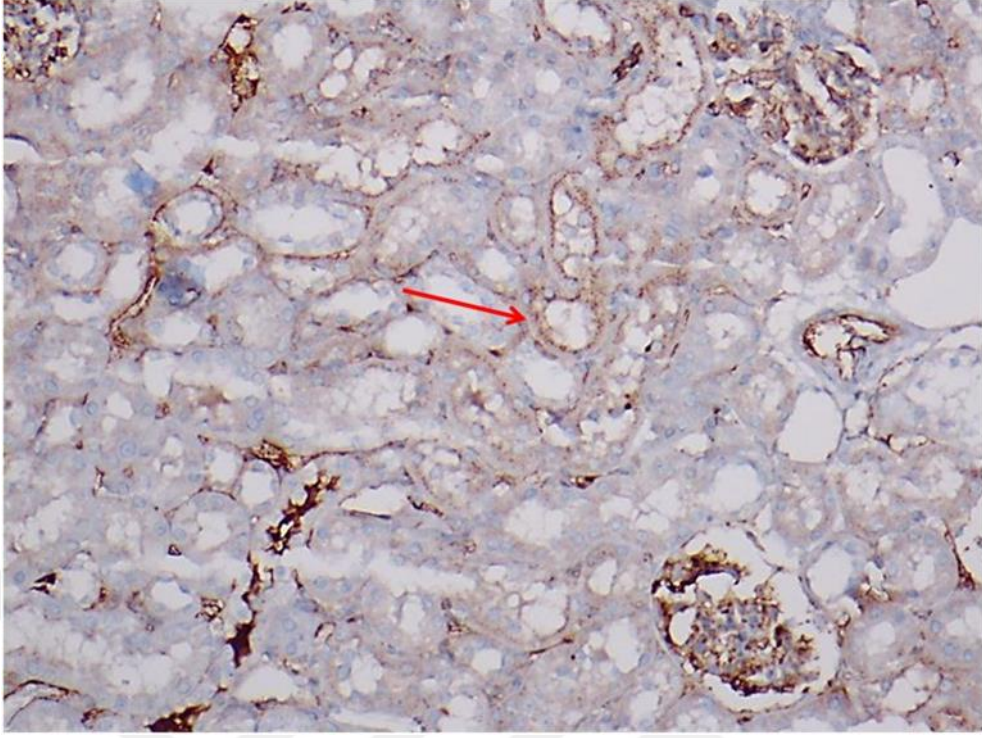
Şekil 49. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu iNOS total skor düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Kontrol+Relaksin, Grup 3: ABH, Grup 4: ABH+Relaksin. b: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma;***: $p<0,001$

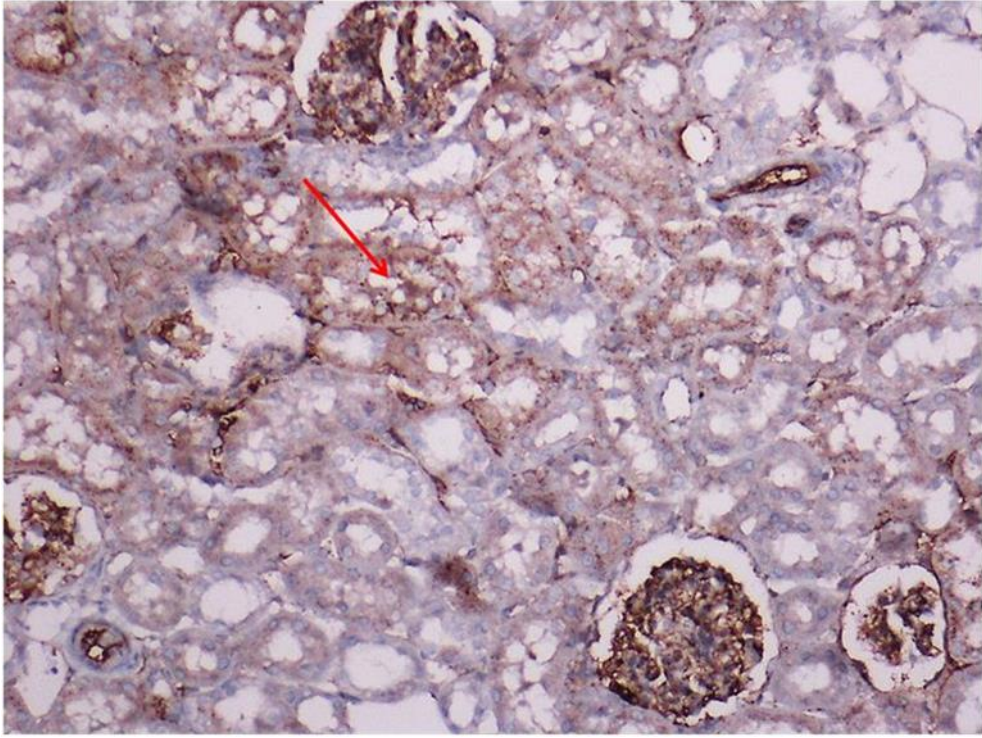
Sıçanların böbrek kesitleri immünohistokimyasal olarak iNOS antikoruna ile boyandı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi. İmmünohistokimyasal değerlendirmeler hedef hücrelerin boyanıp boyanmamasına ve boyanmanın yoğunluk ve yaygınlığına göre yapılmıştır. Gruplar incelendiğinde Grup 1 (Şekil 50) ve Grup 2 (Şekil 51)'nin proksimal tübüllerinde zayıf boyanma görülürken, Grup 3 (Şekil 52)'te proksimal tübüllerde kuvvetli boyanma görülmüştür. Grup 4 (Şekil 53)'te ise Grup 3'e benzer şekilde proksimal tübüllerde kuvvetli boyanma görülmüştür.



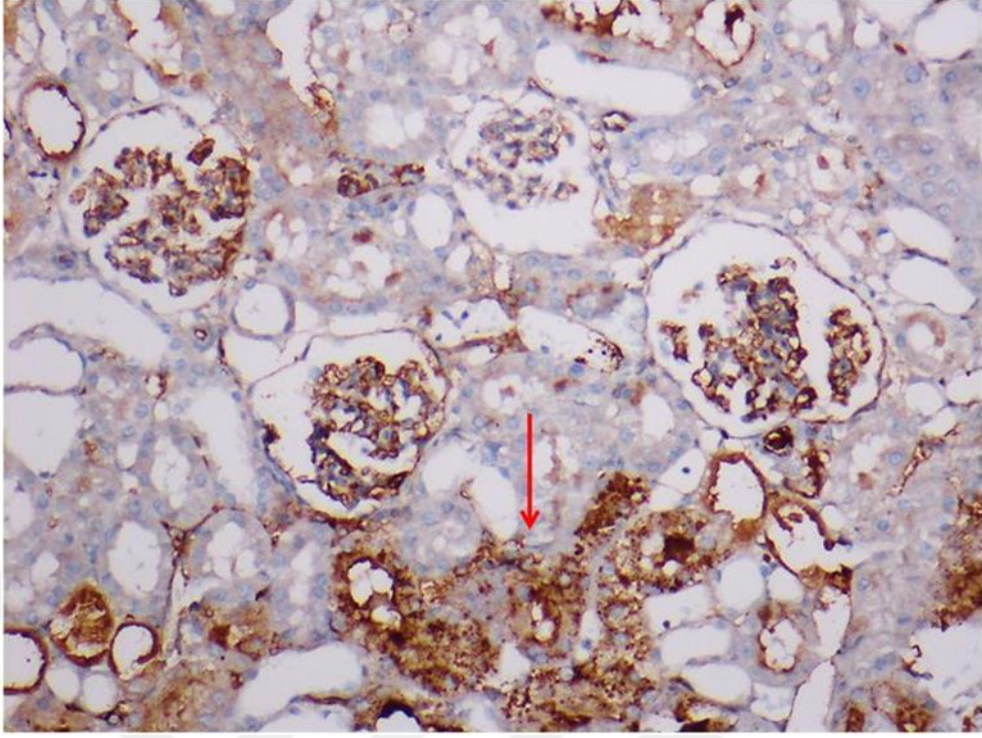
Şekil 50. Grup 1'in böbrek dokusunda iNOS immünoreaktivitesi (x200)
Mavi ok: proksimal tübüllerde zayıf boyanma



Şekil 51. Grup 2'nin böbrek dokusunda iNOS immünoreaktivitesi (x200)
Kırmızı ok: proksimal tübüllerde fokal zayıf boyanma



Şekil 52. Grup 3'ün böbrek dokusunda iNOS immünoreaktivitesi (x200)
Kırmızı ok: proksimal tübüllerde kuvvetli boyanma



Şekil 53. Grup 4'ün böbrek dokusunda iNOS immünoreaktivitesi (x200)
Kırmızı ok: proksimal tübüllerde kuvvetli boyanma

TARTIŞMA

Çalışmamızda sıçanlara intramüsküler %50'lik gliserol enjeksiyonu ile oluşturduğumuz, deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı modelinin fizyopatolojisinde relaksin hormonunun böbrek fonksiyonları ve hasarı üzerine etkileri ile nitrik oksit metabolizması ve serbest radikallerin oluşturduğu hasar üzerindeki rolü araştırıldı. Bu amaçla, deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı gelişiminin 24. saatinde serum relaksin düzeyleri ile nitrik oksit düzeyleri ve böbrek fonksiyon testleri (serum üre, serum kreatinin, kreatinin klirensi, fraksiyonel sodyum atılımı) ile kas hasarı sonucu açığa çıkan ve kas hasarının derecesi hakkında bilgi veren serum potasyum, serum CK, serum LDH, serum ALT ve serum AST düzeyleri incelendi. Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeyleri ile endojen güçlü bir antioksidan olan okside ve redükte glutatyon düzeyleri araştırıldı. Ayrıca idrar örneklerinde proksimal tübül hasarının spesifik bir belirteci olarak kabul edilen KIM-1 düzeyleri incelendi.

Sıçanlar 24 saat susuz bırakıldıktan sonra 8 ml/kg dozunda %50'lik gliserol solüsyonu her iki arka bacak kaslarına enjekte edilerek oluşturduğumuz akut böbrek hasarı modelinde böbrek fonksiyonlarının bozulduğu, lipid peroksidasyonunun arttığı, glutatyon düzeylerinin azaldığı, histopatolojik olarak böbrek hasarının geliştiği ve tübüler kast birikiminin arttığı görüldü. Ayrıca bu kas hasarının belirteçleri olarak kabul edilen serum potasyum, serum ALT, serum AST, serum CK ve serum LDH düzeylerinde artışlar olduğu belirlendi. İmmünohistokimyasal yöntemle incelenen iNOS enzim aktivitelerinde artma, eNOS enzim aktivitelerinde azalma olduğu görüldü. Proksimal tübül hasarının bir belirteci olan KIM-1

düzeylerinde de bir artış olduğu saptandı. Bu sonuçlarımız deneysel miyogobinürik akut böbrek hasarının geliştiğini ve deneysel modelin oluştuğunu göstermektedir.

Çalışmamızda intramüsküler serum fizyolojik verdiğimiz ve 1., 6., 12. ve 18. saatlerde subkutan PBS enjeksiyonu yaptığımız kontrol grubu olan 1. grup sıçanlar ile im. serum fizyolojik verdiğimiz ve 1., 6., 12. ve 18. saatlerde subkutan 5 µg/kg dozunda relaksin verilen sağlıklı sıçanlarda relaksin etkilerinin incelendiği 2. grup sıçanları karşılaştırdığımızda, ikinci gruptaki sıçanlarda serum üre, kreatinin, ALT düzeyleri ile idrar üre düzeylerinin anlamlı düzeyde azaldığı görüldü. Ayrıca idrar kreatinin atılımında anlamlı bir azalma olduğu saptandı. Diğer parametrelerde 1. ve 2. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi. Collino ve ark. (86) böbrek iskemi reperfüzyon hasarına karşı relaksin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, sham grubuna operasyon yapılmadan hemen önce intravenöz 5 µg/kg dozunda relaksin verilmesinin serum üre ve serum kreatinin düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı farklılık oluşturmadığını rapor etmişlerdir. Garber ve ark. (88) brometilenamin enjekte edilerek renal fibrosis geliştirdikleri çalışmalarında, kontrol grubu hayvanlara 28 gün boyunca osmotik pompa ile 2 µg/saat relaksin verilmesinin serum kreatinin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalmaya neden olduğunu rapor etmişlerdir. Danielson ve ark. (94) farklı yaş grubundaki sıçanlara 4 µg/saat relaksin verilmesinin glomerüler filtrasyon hızını arttırdığını ve böbrek damarlarında vazodilatasyona neden olarak hiperfiltrasyona neden olduğunu rapor etmişlerdir. Yine aynı çalışmada serum kreatinin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma, serum üre düzeyinde ise anlamlı bir azalmanın olduğu rapor edilmiştir (94). Çalışmamızda görülen serum kreatinin ve üre düzeylerindeki azalmanın GFR artışına bağlı olarak geliştiğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda %50'lik gliserolün im. 8 ml/kg dozunda verildiği ve sc. olarak 1., 6., 12. ve 18. saatlerde PBS verilen 3. grup sıçanlarda böbrek fonksiyon belirteçleri olan serum üre ve serum kreatinin düzeylerinde, tübüler fonksiyonların göstergesi olan fraksiyonel sodyum atılımında, kas hasarının belirteçleri olan serum ALT, serum AST, serum CK, serum K⁺ ve serum LDH aktivitelerinde ve serum NO düzeylerinde anlamlı artış gözlemlendi. Böbrek dokusunda lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeylerinde, histopatolojik olarak yapılan incelemelerde böbrek hasar skoru ve tübüler kast birikiminde anlamlı artış olduğu saptandı. Okside glutatyon ile redükte glutatyon düzeylerinde ve nitrik oksit düzeylerinde anlamlı azalma saptandı. Glomerüler filtrasyonun bir belirteci olan kreatinin klirensinde ve idrar nitrik oksit, idrar sodyum, idrar üre ve idrar kreatinin düzeyleri ile idrar hacminde anlamlı düzeyde azalma, proksimal tübül hasarının göstergesi olan idrar KIM-1

düzeyinde anlamlı artma gözlemlendi. Miyoglobürik akut böbrek hasarı oluşturulan bu grupta immünohistokimyasal lokalizasyonları incelenen iNOS aktivitelerinde artma, eNOS aktivitelerinde azalma görüldü.

Çalışmamızın 3. grubunda görülen serum üre ve serum kreatinin düzeylerindeki artış daha önce bu model ile yapılan çalışma sonuçları ve laboratuvarımızda daha önce yaptığımız çalışma sonuçlarımız ile uyumluluk göstermektedir (95-97). Çebi ve ark. (96) im. 8 ml/kg dozunda gliserol (%50) enjekte ederek miyoglobürik akut böbrek hasarında hiperbarik oksijen tedavisinin etkisini inceledikleri çalışmalarında, kontrol grubuna göre mABH oluşturulan grupta serum üre ve serum kreatinin düzeylerinin anlamlı düzeyde arttığını bildirmişlerdir. Ayrıca serum CK, serum ALT ve serum AST düzeylerinde de anlamlı artış olduğunu rapor etmişlerdir (96). Asmari ve ark. (98) sıçanlarda 24 saat susuzluğu takiben im. 10 ml/kg vücut ağırlığı dozunda gliserol (%25) enjekte ederek, gliserol ile indüklenen akut böbrek hasarında kinakrinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, akut böbrek hasarı oluşturulan grupta serum üre, serum kreatinin ve serum potasyum düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artış gösterdiğini rapor etmişlerdir. Yine aynı çalışmada akut böbrek hasarı oluşturulan grupta doku MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdiğini bildirmişlerdir (98). Li ve ark. (99) sıçanlarda 24 saat susuzluğu takiben 10 ml/kg vücut ağırlığı dozunda im. gliserol (%50) enjeksiyonu yaparak gliserol ile indüklenen akut böbrek hasarında deniz yosunu *Laminaria japonica*'dan ekstrakte edilen düşük moleküler ağırlıklı sülfatlanmış polisakkaritin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, ABH oluşturulan grupta serum üre ve serum kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdiğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda glomerüler filtrasyonun bir belirteci olarak değerlendirdiğimiz kreatinin klirensi düzeylerinde görülen anlamlı azalma, literatürde daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumluluk gösterdi (100). Çalışmamızda bu sonuçlar glomerüler fonksiyonların bozulduğunu ve bu grupta ABH oluştuğunu göstermektedir. Fraksiyonel sodyum atılımı akut böbrek yetmezliğinin etiyojisi hakkında bilgi veren bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Pre-renal akut böbrek yetmezliğinde FeNa değeri %1'in altında iken, rabdomiyolizde FeNa değerinin %1'in üzerinde olduğu rapor edilmiştir (101). Çalışmamızda tübüler fonksiyonun bir belirteci olarak kullanılan FeNa'daki artış önceki çalışmalarda olduğu gibi tübüler fonksiyonların bozulduğunu göstermektedir (102). İskelet kasının hem metabolik hem de mekanik nedenlere bağlı olarak hasarlanması sonucu serum ALT, serum AST, serum CK, serum LDH ve serum potasyum belirteçleri yaygın göstergeler olarak kullanılmaktadır (103). Hiperkalemi, rabdomiyolizin hayati tehlike oluşturan en önemli nedeni olduğu ve kreatinin kinaz

seviyelerinin hasardan 2-12 saat sonra artış gösterdiği rapor edilmiştir (101). Bizim çalışmamızda, iskelet kas hasarının belirteçleri olarak kullandığımız bu parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artma görüldü. Bu bulgularımız laboratuvarımızda daha önce yaptığımız çalışmalar ve literatürdeki çalışmalarla benzerlik gösterdi (65,95,96,98). Atwa ve ark. (104) rbdomyolizle indüklenen akut böbrek yetmezliğinin gliserol modeline karşı vazodilatatör beta blokerler carvedilol ve nebivololün etkilerini inceledikleri çalışmalarında kontrol grubuna göre im. %50'lik gliserol (8 ml/kg dozunda) ejeksiyonu yapılan akut böbrek yetmezliği oluşan grupta serum potasyum düzeyinin anlamlı derecede arttığını rapor etmişlerdir. Hasarlanan kastan hücre içi potasyum salınmasından dolayı hiperkalemi görüldüğü rapor edilmiştir (104). Aynı çalışmada görülen hiperkalemi tablosu çalışmamızın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. İdrarda KIM-1 varlığı böbrek hasarı için spesifik bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Normal proksimal tübül hücrelerinde KIM-1 ekspresyonunun ölçülemediği bildirilmiştir (105). Bizim çalışmamıza benzer şekilde, Shanu ve ark. (35) 18 saat susuzluğu takiben 6 ml/kg dozunda im. gliserol (%50) ile oluşturdukları rbdomyoliz modelinde, selenyumun etkilerini inceledikleri çalışmalarında, rbdomyoliz oluşturdukları grupta kontrol grubuna göre idrar KIM-1 düzeylerinde anlamlı artış olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda KIM-1 düzeylerinde görülen artışın proksimal tübülde hasarın oluştuğunu ve tübüler fonksiyonlarda görülen azalma için de bir biyobelirteç olduğunu gösterdi.

Çalışmamızda kontrol grubu olan grup 1 ile ABH oluşturulan grup 3 karşılaştırıldığında, serum nitrik oksit düzeylerinde anlamlı düzeyde artma görüldü. Bizim çalışmamıza benzer şekilde, Eissa ve ark. (106) miyoglobinürik akut böbrek hasarında (im. %50 gliserol 10 ml/kg) L-Carnitinin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, kontrol grubu ile miyoglobinürik akut böbrek hasarı oluşturulan grubu karşılaştırdıklarında mABH oluşturulan grupta serum nitrik oksit düzeylerinde anlamlı artış olduğunu rapor etmişlerdir.

Nitrik oksit böbreklerde renal hemodinamiğin düzenlenmesinde, medullar perfüzyonun korunmasında, tübüler sodyum geri emiliminin inhibisyonu, renal sempatik sinir aktivitesinin düzenlenmesi, tübüloglomerüler geribildirim mekanizmasında rol oynamaktadır. Nitrik oksitin böbrekteki net etkisi natriürez ve diürezi düzenlemesidir (61). Nitrik oksit normal koşullarda eNOS tarafından sentezlenir ve mikrosirkülasyonun düzenlenmesinde trombosit adhezyonunun inhibisyonunda önemli rol oynar. iNOS'un inflamasyonla ilgili böbrek hastalıklarında aktivitesinin arttığı rapor edilmektedir. Miyoglobinürik akut böbrek hasarında nitrik oksit düzeylerindeki azalmanın renal hasarı arttırabileceği rapor edilmektedir. Deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarında birçok çalışmada serbest radikal hasarına neden olan

birçok reaktif oksijen türlerinin arttığı gösterilmiştir. Serbest oksijen radikali düzeyleri NO biyoaktivitesini ve eNOS aktivasyonunu azaltabilirler. Serbest oksijen radikallerinin artan doku seviyeleri lokal olarak salınan NO'yu peroksinitrite dönüştürerek doku hasarına ve nitrik oksit biyoyararlanımında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (107,108-110). Çalışmamızda böbrek NO düzeylerinin azalması serum NO düzeyindeki artış ve idrar NO düzeyindeki azalma laboratuvarımızda yaptığımız ve literatürdeki birçok çalışma ile benzerlik göstermektedir (100,106,111).

Literatürdeki birçok çalışmada gliserol verilerek akut böbrek hasarı oluşturulan modelde böbrek NO düzeyindeki azalmanın böbrek fonksiyonlarının azalmasında önemli rol oynadığı ifade edilmektedir. Bu durum çalışmamızın bu grubunda görülen böbrek nitrik oksit düzeyindeki azalma ve böbreklerde glomerüler ve tübüler fonksiyon bozukluklarını desteklemektedir (100,111). İmmünohistokimyasal yöntemlerle incelediğimiz iNOS aktivitesinin belirgin olarak arttığı, eNOS aktivitesinin ise azaldığı görüldü. Son zamanlarda bu modelle yapılan çalışmalarda iNOS ve eNOS sonuçlarının bizim sonuçlarımız ile benzerlik gösterdiği görüldü. (65,112). Gliserol ile indüklenen akut böbrek hasarı modelinde iNOS kaynaklı NO'nun aşırı üretimi böbrek tübüllerinde hasara sebep olduğu bildirilmiştir. Nara ve ark. (65) kısa süreli gliserol ile indüklenen akut böbrek hasarı modelinde gliserolü 10 ml/kg dozunda im. olarak verdikleri gliserol enjeksiyonundan 1 veya 3 saat sonra iNOS düzeylerini değerlendirdikleri çalışmalarında, iNOS düzeylerinin gliserol enjeksiyonundan 1 saat sonra ve 3 saat sonra kontrol grubuna göre anlamlı arttığı, ancak 1 ve 3 saatlik iNOS düzeyleri arasındaki artış kıyaslandığında anlamlı bir farklılığın olmadığını bildirmişlerdir (65). Zafrani ve ark. (113) sıçanlarda sepsis ile indüklenen ABH modelinde (Lipopolisakkaritin 10 mg/kg dozunda 30 dk infüzyonu) kan transfüzyonunun böbrek oksijenizasyonu ve böbrek fonksiyonları üzerindeki etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında kontrol grubuna göre ABH oluşturulan grupta eNOS düzeylerinin anlamlı düzeyde azaldığını rapor etmişlerdir (113). Endojen güçlü antioksidan olan glutatyon düzeylerindeki azalma ve lipid peroksidasyonunun son ürünü MDA düzeylerindeki anlamlı artış bu grupta serbest radikal aracılı hasarın oluşturduğunun bir göstergesi kabul edilebilir. Manikandan ve ark. (114) deneysel mABH modelinde (8 ml/kg dozunda %50 gliserol) böbrek hasarlarına karşı ferulik asitin etkisini inceledikleri çalışmalarında kontrol grubuna göre ABH grubunda doku MDA düzeylerinde anlamlı düzeyde artış ve indirgenmiş glutatyon düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğunu rapor etmişlerdir (114). MDA düzeylerindeki anlamlı artış, GSH düzeylerinde anlamlı azalma daha önce laboratuvarında yaptığımız çalışma ve mevcut literatür sonuçları ile uyumluluk

göstermektedir (95,97,104). Çalışmamızın bu grubunda hematoksilen eozin boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde yoğun nekroz ve tübüler kast şeklinde dens proteinöz madde birikiminde anlamlı düzeyde artış izlendi. Bu bulgularımız daha önceki çalışma sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir (95,115).

Çalışmamızda %50 giserolün im. olarak 8 ml/kg dozunda verildiği ve subkutan olarak 1., 6., 12. ve 18. saatlerde 5 µg/kg dozunda relaksin tedavisi verilen 4. grup sıçanlardaki parametreleri, akut böbrek hasarı geliştirilen 3. grup ile kıyasladığımızda, böbrek fonksiyon parametrelerinde, nitrik oksit metabolizması ile ilgili parametrelerde, oksidatif stres, antioksidan düzeylerinde, histopatolojik incelemelerde relaksin tedavisinin anlamlı bir farklılık oluşturmadığı görüldü. Collino ve ark. (86) 1 saat iskemi, 6 saat reperfüzyon yaptıkları çalışmalarında, 5 µg/kg dozunda relaksini intravenöz olarak verdikleri çalışmalarında reperfüzyonun başlangıcında ve reperfüzyonun 3. saatinde relaksin verilmesinin serum üre ve kreatinin düzeylerini azalttığını, idrar miktarlarını arttırdığını bildirilmişlerdir. Ayrıca MDA düzeyini azalttığını, süperoksit dismutaz enzimini arttırdığını, böylece oksidatif stresi azalttığını ve koruyucu rol oynadığını rapor etmişlerdir (86). Yoshida ve ark. (87) erkek sıçanlarda tek taraflı nefroktomi yaptıkları kontralateral 45 dakika iskemi 24 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında, 500 ng/saat dozunda subkutan osmotik pompa yoluyla renal iskemiden sonra, 2 saat önce ve reperfüzyon süresince relaksin verilmesinin serum üre ve kreatinin düzeylerini azalttığını ve apoptozis ve inflamasyona karşı koruyucu rol oynadığını ve renal tübüler hasarı azalttığını rapor etmişlerdir. Yoshida ve ark. (89) sisplatinin oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı relaksin osmotik pompa yolu ile 500 ng/saat 5 ya da 14 gün süreyle verilmesinin plazma üre ve kreatinin seviyelerini anlamlı düzeyde azalttığını, böbrek tübül epitel hasar ile apoptozisi azalttığını göstermişlerdir. Dolayısı ile bu sonuçlara göre, relaksin verilmesinin sisplatin verilmesinin oluşturduğu hasara karşı koruyucu rol oynadığı bildirilmiştir. Garber ve ark. (88) brometilenamin enjeksiyonu ile oluşturdukları renal interstisyel fibrosis modelinde, osmotik pompa yolu ile 2 µg/saat dozunda 28 gün boyunca relaksin verilmesinin renal interstisyel fibrosisi azalttığı böbrek fonksiyonlarını koruyarak (kreatinin düzeyini azalttığı, kreatinin klirensini arttırdığı) koruyucu rol oynadığını rapor etmişlerdir (88). Zhao ve ark. (90). Fare ve sıçanlarda domuz relaksin-1 ile rekombinant insan relaksin 2'nin biyoaktivitelerini karşılaştırdıkları çalışmalarında relaksini 6 saat aralıklarla subkutan olarak uygulamışlardır. Bizde çalışmamızda benzer şekilde relaksini 6 saat ara ile subkutan enjeksiyonunu yaparak mevcut modelimizdeki etkilerini araştırdık.

Relaksinin yukarıda özetlendiği birçok *invivo* deneysel çalışmada böbrek fonksiyonlarını koruduğu anti-inflamatuvar, anti-iskemik, anti-fibrotik, anti-apoptotik bir hormon olduğu birçok çalışmada rapor edilmiştir (12,86,87). Ayrıca böbrekte güçlü bir vazodilatör etki oluşturduğu böbreklerde nitrik oksit düzeyini artırarak böbrek fonksiyonlarının düzenlenmesinde ve böbrek hasarının azaltılmasında önemli rol oynadığı rapor edilmiştir (13). Yaptığımız çalışmamızda relaksinin incelenen parametreler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etkiler oluşturmamasının birkaç nedeni olabilir; çalışmamızda deneysel mABH oluşturmak için gliserol enjeksiyonununun 1., 6., 12. ve 18. saatlerinde relaksini subkutan olarak verdik (86,90). Bizim çalışma sonuçlarımızın daha önce yapılan çalışma sonuçları ile uyumlu olmaması; 1) relaksinin veriliş yoluna, 2) relaksinin dozuna 3) verilme zamanı, 4) verilme süresi, 5) deneysel mABH'nin oluşma mekanizmasında etkili faktörlerin, diğer deneysel modellerden farklı olmasının bir sonucu olabilir. Ayrıca literatürdeki diğer çalışmalar incelendiğinde relaksinin yarı ömrünün insanlarda yaklaşık olarak 5-15 dakika olması nedeniyle osmotik pompa yoluyla infüzyon tarzında uzun süreli verildiği görülmektedir (86). Çalışmamızda daha önce literatür destekli doz ve veriliş zamanları alınması koruyucu etkilerinin görülmemesinin bir nedeni olabilir. Relaksinin vazodilatör etkinliği nedeniyle böbrek dışındaki damarlarda vazodilatasyona neden olması rabdomiyolize bağlı kas hasarı sonucu oluşan hipovolemik etkiyi arttırmış olabilir. Bunun sonucunda böbrek hasarı üzerindeki koruyucu etkilerini göstermesinde verilen doz yetersiz olabilir.

Relaksinin bütün bu bulgular ve literatür ile birlikte değerlendirildiğinde deneysel miyoglobürik ABH'de relaksinin etki mekanizmasını göstermek için çalışmamız yetersiz kalmaktadır. Bu konuda relaksinin dozu, veriliş yolu, veriliş zamanı ve verilme süresinde yapılan düzenlemeler ile renal kan akımı böbrek fonksiyonları oksidatif hasar derecesini gösteren parametreler ile nitrik oksit metabolizması üzerindeki etkileri moleküler düzeyde araştıran daha kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiği düşüncesindeyiz. Birçok deneysel böbrek modelinde yararlı etkileri gösterilen relaksinin etkinliğini daha detaylı araştırmak amacıyla; relaksinin yarı ömrünün kısa olması nedeniyle osmotik pompalarla saatlik salınımının yapıldığı ve relaksinin farklı zamanlarda (3., 6., 24., 48., 96. saatlerde) ve farklı dozlarda etkilerinin araştırılması için yeni kapsamlı projelerin yapılması gerektiği görüşündeyiz.

SONUÇLAR

Mevcut çalışmamızda, hipertonic gliserolün im. uygulanmasıyla oluşturulan deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı modelinde, relaksin hormonunun böbrek fonksiyonları ve hasarı üzerine etkileri ile nitrik oksit metabolizması ve serbest radikallerin oluşturduğu hasar üzerindeki rolü araştırıldı. Sonuçlar değerlendirildiğinde;

Çalışmamızda im. serum fizyolojik verdiğimiz ve 1., 6., 12. ve 18. saatlerde sc. PBS enjeksiyonu yaptığımız kontrol grubu olan 1. grup sıçanlar ile im. serum fizyolojik verdiğimiz ve 1., 6., 12. ve 18. Saatlerde sc. 5 µg/kg dozunda relaksin verilen sağlıklı sıçanlarda relaksin etkilerinin incelendiği 2. grup sıçanları karşılaştırdığımızda, ikinci gruptaki sıçanlarda serum üre, serum kreatinin, serum ALT düzeyleri ile idrar üre ve idrar kreatinin düzeylerinde anlamlı azalma olduğu saptandı.

Çalışmamızda %50'lik gliserolün 8 ml/kg dozunda im. olarak verildiği ve sc. olarak 1., 6., 12. ve 18. saatlerde PBS verilen 3. grup sıçanlarda, böbrek fonksiyon belirteçleri olan serum üre ve serum kreatinin düzeyleri, tübüler fonksiyonların göstergesi olan fraksiyonel sodyum atılımında, kas hasarının belirteçleri olan serum ALT, serum AST, serum CK, serum K⁺ ve serum LDH aktivitelerinde, serum NO düzeylerinde anlamlı artış gözlemlendi. Böbrek dokusunda lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeylerinde, histopatolojik olarak yapılan incelemelerde böbrek hasar skoru ve tübüler kast birikiminde anlamlı artış olduğu saptandı. Okside glutasyon ile redükte glutasyon düzeylerinde ve nitrik oksit düzeylerinde anlamlı azalma saptandı. Glomerüler filtrasyonun bir belirteci olan kreatinin klirensinde ve idrar NO, idrar Na⁺, idrar üre ve idrar kreatinin düzeyleri ile idrar hacminde

anlamli düzeyde azalma, proksimal tübül hasarının göstergesi olan idrar KIM-1 düzeyinde anlamli artma gözlendi. Miyoglobinin akut böbrek hasarı oluşturulan bu grupta immünohistokimyasal lokalizasyonları incelenen iNOS aktivitelerinde artma, eNOS aktivitelerinde azalma görüldü. Bu sonuçlarımız deneysel miyoglobinin akut böbrek hasarı modelinin geliştiğini ve deneysel modelin oluştuğunu göstermektedir.

Çalışmamızda %50 giseroln im. olarak 8 ml/kg dozunda verildiği ve sc. olarak 1., 6., 12. ve 18. saatlerde 5 µg/kg dozunda relaksin tedavisi verilen 4. grup sıçanlardaki parametreleri akut böbrek hasarı geliştirilen 3. grup ile kıyasladığımızda, böbrek fonksiyon parametrelerinde, nitrik oksit metabolizması ile ilgili parametrelerde, oksidatif stres, antioksidan düzeylerinde, histopatolojik incelemelerde relaksin tedavisinin anlamli bir farklılık oluşturmadığı görüldü.

Relaksinın bütün bu bulgular ve literatür ile birlikte değerlendirildiğinde deneysel miyoglobinin ABH'de relaksinın etki mekanizmasını göstermek için çalışmamız yetersiz kalmaktadır. Bu konuda relaksinın dozu, veriliş yolu, veriliş zamanı ve verilme süresinde yapılan düzenlemeler ile renal kan akımı, böbrek fonksiyonları, oksidatif hasar derecesini gösteren parametreler ile nitrik oksit metabolizması üzerindeki etkileri moleküler düzeyde araştıran daha kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiği düşüncesindeyiz.

ÖZET

Relaksin, anti-inflamatuvar, anti-iskemik ve vazodilatatör özelliklere sahip bir hormondur. Birçok deneysel böbrek hasarı modelinde koruyucu rol oynadığı bildirilmiştir. Miyoglobürik ABH, travma ve travma dışı nedenlerle iskelet kası hücrelerinin hasara uğraması ve hücre içi elemalarının dolaşıma geçmesi yani rabdomiyoliz sonucu oluşan bir sendromdur. Çalışmamızda mABH'de relaksinin düzeylerini, böbrek fonksiyonları ve hasarı üzerindeki etkilerini ve etki mekanizmalarını araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda 36 adet erkek sıçandan oluşan 4 grup oluşturuldu. 24 saat susuzluğu takiben; 1. ve 2. grup sıçanlara serum fizyolojik, 3. ve 4. gruptaki sıçanlara gliserol (%50) solüsyonundan 8 ml/kg'a göre bulunacak toplam hacim eşit miktarlarda her iki arka bacak kaslarına enjekte edildi. Metabolik kafese alınan 1. ve 3. grup sıçanlara; 1., 6., 12., ve 18. saatte sc. PBS enjeksiyonu, 2. ve 4. grup sıçanlara ise sc. 5µg/kg dozunda relaksin verildi. İntramüsküler gliserol veya serum fizyolojik enjeksiyonunun 24. saatinde idrarları alındıktan sonra, anestezi altında sıçanların kan örnekleri ve böbrek dokuları alındı. İkili gruplar arasındaki karşılaştırmalarda Mann Whitney U testi kullanıldı. Çalışmamızda 3. grup sıçanlarda serum üre, kreatinin, ALT, AST, CK, K⁺, LDH, NO ve FeNa düzeylerinde anlamlı artış gözlemlendi. Böbrek dokusunda ise MDA düzeylerinde, histopatolojik olarak yapılan incelemelerde böbrek hasar skoru ve tübüler kast birikiminde anlamlı artış, GSH ile NO düzeylerinde anlamlı azalma saptandı. Çalışmamızda 4. grup ile 3. grubu kıyasladığımızda incelenen parametrelerde anlamlı farklılık olmadığı görüldü. Relaksinin dozu, verilmiş yolu, verilmiş zamanı ve verilme süresinde yapılan düzenlemeler ile renal kan akımı, böbrek fonksiyonları, oksidatif hasar derecesini gösteren parametreler ile NO

metabolizması üzerindeki etkileri moleküler düzeyde araştıran daha kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiği dūřüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Relaksin, Nitrik Oksit, Glutasyon, Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı, Rabdomiyoliz



THE EFFECTS OF RELAXIN IN EXPERIMENTAL MYOGLOBINURIC ACUTE KIDNEY INJURY

SUMMARY

Relaxin is a hormone that includes anti-inflammatory, anti-ischemic and vasodilatory features. It is stated that it plays a productive role in many experimental kidney damage models. Myoglobinuric acute kidney injury (mAKI) is a uremic syndrome that appears because of the damage in skeletal muscle cells and getting into circulation of inner-cell elements related to traumatic and non-traumatic reasons, namely rhabdomyolysis. In our study, we aimed to determine the relaxin level and its effects and effect mechanisms on kidney damage and functions in mAKI. In this study, four groups consisting of 36 male rats were composed. After those rats were left without water for 24 hours, saline (SF) was given to the first and second group of rats, hypertonic glycerol (%50) solution was injected into each back leg muscles with equal level of 8 ml/kg to the third and fourth groups of rats. After the injection, the rats are taken to the metabolic cages. Subcutaneous phosphate buffer solution (PBS) were injected on the 1st, 6th, 12th, and 18th hours in the 1st and 3rd group of rats. Subcutaneous 5 µg/kg of relaxin were injected to 2nd and 4th group of rats in the same time basis. After 24th hour of intramuscular glycerol or SF injection their urines were taken. The rats were euthanatized under anaesthesia and their blood samples and kidney tissues were taken. Mann Whitney U test was used in the comparison of the groups. In our study, in the 3rd group, mAKI, there was statistically significant increase in serum urea, creatinine, alanine

aminotransferase, aspartate aminotransferase, creatine kinase, potassium, nitric oxide (NO) levels and lactate dehydrogenase activities and in the fractional sodium excretion. In the kidney tissue, there was a statistically significant increase in the malondialdehyde levels. In histopathological examination, we observed a significant decrease in glutathione and NO levels, kidney damage score and tubular cast storage. In our study, relaxin treatment did not significantly change our investigated parameters in AKI model. We believe that more extensive studies should be carried out on the dose of relaxin, its time and route of administration, on the parameters of renal blood flow, renal functions, oxidative damage and the effects on nitric oxide metabolism in molecular level.

Keywords: Relaxin, Nitric oxide, Glutathione, Myoglobinuric acute kidney injury, Rhabdomyolysis

KAYNAKLAR

1. Rewa O, Bagshaw SM. Acute kidney injury-epidemiology, outcomes and economics. *Nat Rev. Nephrol.* 2014;10(4):193-207.
2. Basile DP, Anderson MD, Sutton TA. Pathophysiology of acute kidney injury. *Compr Physiol* 2012;2(2):1303-53.
3. Çakar N, Şentürk E. Akut böbrek hasarında yeni sınıflama sistemleri ve erken tanı göstergeleri (RIFLE ve AKI). *Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi* 2010;8(1):1-6.
4. Akdam H, Alp A. Ezilme sendromu. *Tepecik Eğit. ve Araşt. Hast. Dergisi* 2015;25(2):71-7.
5. Vanholder R, Sever MS, Erek E, Lameire N. Rhabdomyolysis. *J Am Soc Nephrol* 2000;11(8):1553-61.
6. Sever MŞ. Crush (ezilme) sendromu ve Marmara depreminden çıkarılan dersler. *İstanbul: Türk Nefroloji Derneği Yayınları*, 2002:15-79.
7. Shapiro ML, Baldea A, Luchette FA. Rhabdomyolysis in the intensive care unit. *Journal of Intensive Care Medicine* 2010;27(6):335-42.
8. Galeiras R, Mourelo M, Pértega S, Lista A, Ferreira ME, Salvador S et al. Rhabdomyolysis and acute kidney injury in patients with traumatic spinal cord injury. *Indian Journal of Critical Care Medicine* 2016;20(9):504-12.
9. Boutaud O, Roberts II LJ. Mechanism-based therapeutic approaches to rhabdomyolysis-induced renal failure. *Free Radical Biology & Medicine* 2011;51(5):1062-7.

10. Sukhovshin RA, Gilinsky MA. Endogenous regulators of NO bioavailability in rats with acute renal failure. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2012;153(4):444-7.
11. Sherwood OD. Relaxin's physiological roles and other diverse actions. *Endocrine Reviews* 2004;25(2):205-34.
12. Haase N, Rugor J, Przybyl L, Quadri F, Müller DN, Dechend R. Relaxin does not improve angiotensin II- induced target- organ damage. *PloS One* 2014;9(4):e93743.
13. Sasser JM. The emerging role of relaxin as a novel therapeutic pathway in the treatment of chronic kidney disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2013;305(6):559-65.
14. Teichman SL, Unemori E, Teerlink JR, Cotter G, Metra M. Relaxin: review of biology and potential role in treating heart failure. *Curr Heart Fail Rep* 2010;7(2):75-82.
15. Petejova N, Martinek A. Acute kidney injury due to rhabdomyolysis and renal replacement therapy: a critical review. *Critical Care* 2014;18(3):224.
16. Singh AP, Muthuraman A, Jaggi AS, Singh N, Grover K, Dhawan R. Animal models of acute renal failure. *Pharmacological Reports* 2012;64(1):31-44.
17. Sharma SP. Nitric oxide and the kidney. *Indian J Nephrol* 2004;14:77-84.
18. Al-Saqladi AWM. Acute kidney injury: new definitions and beyond. *Journal of Nephrology & Therapeutics* 2016;6(1).
19. Çivilibal M, Aksu BY. Güncel kılavuzlar eşliğinde akut böbrek hasarı. *Haseki Tıp Bülteni* 2015;53: 116-9.
20. Bilgili B, Haliloğlu M, Cinel İ. Sepsis ve akut böbrek hasarı. *Turk J Anaesth Reanim* 2014;42:294-301.
21. Neves JB, Jorge S, Lopes JA. Acute kidney injury: epidemiology, diagnosis, prognosis, and future directions. *EMJ Nephrol* 2015;3(1):90-96.
22. Konda VGR, Eerike M, Raghuraman LP, Rajamanickam MK. Antioxidant and nephroprotective activities of *Aconitum heterophyllum* root in glycerol induced acute renal failure in rats. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 2016;10(3):1-5.
23. Bicik Z, Ersan S. Akut renal yetmezlik. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1999;3:113-7.

24. Arık N. Akut böbrek yetmezliğinde tanımlamalar ve klinik değerlendirme. İstanbul: Deniz Yayıncılık, 2001:155-61.
25. Öğütmen MB. Akut Böbrek Yetmezliği. GKDA Derg 2011;17(2):25-33.
26. Susantitaphong P, Cruz DN, Cerda J, Abulfaraj M, Alqahtani F, Koulouridis I et al. World incidence of AKI: a meta- analysis. Clinical Journal of the American Society of Nephrology 2013;8(9):1482-93.
27. Lang J, Zuber K, Davis J. Acute kidney injury. Journal of the American Academy of Physician Assistants 2016;29(4):51-4.
28. Taş FS, Cengiz K, Erdem E, Karataş A, Kaya C. Akut ve kronik böbrek yetmezliğinde mortalite nedenleri. Fırat Tıp Dergisi 2011;16(3):120-4.
29. Bosch X, Poch E, Grau JM. Rhabdomyolysis and acute kidney injury. N Engl J Med 2009;361(1):62-72.
30. Richards JR. Rhabdomyolysis and drugs of abuse. J Emerg Med 2000;19(1):51-6.
31. Zimmerman -JL, Shen MC. Rhabdomyolysis. The American College of Chest Physicians 2013;144(3):1058-65.
32. Kahraman NK, Kantarcı G, Kahraman C. Rabdomiyoliz ve hipovolemiye bağlı akut üremi ile başvuran nefrotik sendromlu olgu sunumu. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 2009;18(2):90-3.
33. Nayak S, Jindal A. Myoglobinuria and acute kidney injury. Journal of integrative Nephrology and Andrology 2015;2(2):50-4.
34. Pezzi M, Renda S, Giglio AM, Scozzafava AM, Tiburzi SP, Casella P et al. The use of coupled plasma filtration adsorption in traumatic rhabdomyolysis. Case Reports in Critical Care 2017;2017:1-8.
35. Shanu A, Groebler L, Kim HB, Wood S, Weekley CM, Aitken JB, Harris HH, Witting PK. Selenium inhibits renal oxidation and inflammation but not acute kidney injury in an animal model of rhabdomyolysis. Antioxidants & redox signaling 2013;18(7):756-69.
36. Holt S, Moore K. Pathogenesis of renal failure in rhabdomyolysis: the role of myoglobin. Exp Nephrol 2000;8(2):72-6.
37. Gibney RTN, Sever MS, Vanholder RC. Disaster nephrology: crush injury and beyond. Kidney International 2014;85(5):1049-57.

38. Sever MŞ, Kazancıoğlu R. Van depremi'nin ardından: yine yeniden deprem. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 2012;21(1):7-9.
39. Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık, 2006:749-50.
40. Sezer K, Keskin M. Serbest oksijen radikallerinin hastalıkların patogenezisindeki rolü. F.Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg. 2014;28(1):49-56.
41. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest radikaller. MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg 2016;4(1):50-59.
42. Dąbrowska N, Wiczowski A. Analytics of oxidative stress markers in the early diagnosis of oxygen DNA damage. Adv Clin Exp Med. 2017;26(1):155-66.
43. Persson T, Popescu BO, Cedazo-Minguez A. Oxidative stress in alzheimer's disease: why did antioxidant therapy fail?. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2014; 2014:1-11.
44. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. European Journal of Medicinal Chemistry 2015;(97):55-74.
45. Çelikezen FÇ, Ertekin A. Ratlarda akciğer fibrozisinde lipid peroksidasyonu (MDA), antioksidan madde (Glutatyon, seruloplazmin) ve bazı antioksidan vitamin (B-Karoten, Retinol) düzeylerinin incelenmesi. Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi 2008;(2):17-20.
46. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. Journal of Clinical and Experimental Investigations 2015;6(3):331-36.
47. Kawanishi S, Hiraku Y, Oikawa S. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. Mutation Research 2001;488(1):65-76.
48. Ratliff BB, Abdulmahdi W, Pawar R, Wolin MS. Oxidant mechanisms in renal injury and disease. Antioxid. Redox Signal 2016;25(3):119-46.
49. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT.D, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 2007;39(1):44-84.
50. Godic A, Poljšak B, Adamic M, Dahmane R. The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2014;2014:1-6.

51. Hitchon CA, El-Gabalawy HS. Oxidation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004;6(6):265-78.
52. Poljsak B, Šuput D, Milisav I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013; <http://dx.doi.org/10.1155/2013/956792>.
53. Lushchak VI. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *Journal of Amino Acids* 2012;2012:1-26.
54. Jefferies H, Coster J, Khalil A, Bot J, Mccauley RD, Hall JC. Glutathione. *ANZ J. Surg.* 2003;73(7):517-22.
55. Aksoy Y. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *T Klin Tıp Bilimleri* 2002;(22):442-48.
56. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Mol Aspects Med.* 2009; 30(1-2):42-49.
57. Marangoz C. Nitrik oksit ve deneysel epilepsi. *O.M.Ü Tıp Dergisi* 1996;13(3): 165-83.
58. Monica FZ, Bian K, Murad F. The endothelium- dependent nitric oxide- cGMP pathway. *Advances in Pharmacology* 2016;77:1-27.
59. Vasudevan D, Bovee RC, Thomas D. Nitric oxide, the new architect of epigenetic landscapes. *Nitric Oxide* 2016;59:54-62.
60. Lee J, Bae EH, Ma SK, Kim SW. Altered nitric oxide system in cardiovascular and renal diseases. *Chonnam Medical Journal* 2016;52(2):81-90.
61. Mount PF, Power DA. Nitric oxide in the kidney: functions and regulation of synthesis. *Acta Physiol* 2006;187(4):433-46.
62. Cabral PD, Hong NJ, Garvin JL. Shear stress increases nitric oxide production in thick ascending limbs. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010;299(5):1185-92.
63. Goligorsky MS, Brodsky SV, Noiri E. Nitric oxide in acute renal failure: NOS versus NOS. *Kidney International* 2002;61(3):855-61.
64. Schneider R, Meusel M, Betz B, Kersten M, Möller-Ehrlich K, Wanner C et al. Nitric oxide-induced regulation of renal organic cation transport after renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011;301(5):997-1004.

65. Nara A, Yajima D, Nagasawa S, Abe H, Hoshioka Y, Iwase H. Evaluations of lipid peroxidation and inflammation in short-term glycerol-induced acute kidney injury in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2016;43(11):1080-6.
66. Vicente AG, Garvin JL. Effects of reactive oxygen species on tubular transport along the nephron. *Antioxidants* 2017;6(23):1-15.
67. Kashani K, Cheungpasitporn W, Ronco C. Biomarkers of acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption. *Clin Chem Lab Med* 2017. DOI 10.1515/cclm-2016-0973.
68. Parikh CR, Mishra J, Phillbrook HT, Dursun B, Ma Q, Kelly C et al. Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney International* 2006;70(1):199-203.
69. Büğet Mİ, Özkilitçi E, Küçükgergin C, Seçkin Ş, Küçükay S, Yenigün Y. Akut böbrek yetmezliğinde erken tanı: nötrofil gelatinoz ilişkili lipokain (NGAL), kidney injury molekül-1 (KİM-1), ve interlokin-18 (İL-18), Sistatin C. *Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi* 2014;(12):94-100.
70. Yin C, Wang N. Kidney injury molecule-1 in kidney disease. *Renal Failure* 2016;38(10):1567-73.
71. Rodriguez EC, Prado RF, Cleary CM, Sánchez MSP, Niño MDS, Sanz AB et al. Kidney injury marker 1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin in chronic kidney disease. *Nephron* 2016. doi:10.1159/000447649.
72. Waanders F, van Timmeren MM, Stegeman CA, Bakker SJ, van Goor H. Kidney injury molecule-1 in renal disease. *J Pathol* 2010;220(1):7-16.
73. Westhoff JH, Seibert FS, Waldherr S, Bauer F, Tönshoff B, Fichtner A. Urinary calprotectin, kidney injury molecule-1, and neutrophil gelatinase-associated lipocalin for the prediction of adverse outcome in pediatric acute kidney injury. *Eur J Pediatr*. 2017. doi:10.1007/s00431-017-2907-y.
74. Mehmetoğlu İ. Klinik biyokimya el kitabı. Konya: Nobel Tıp Kitabevleri;2013. s.164-8.
75. Gonzalez F, Vincent F. Biomarkers for acute kidney injury in critically ill patients. *Minerva Anestesiologica* 2012;78(12):1394-1403.
76. Noiri E, Doi K, Negishi K, Tanaka T, Hamasaki Y, Fujita T et al. Urinary fatty acid-binding protein 1: an early predictive biomarker of kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;296(4):669-79.

77. Alge JL, Karakala N, Neely BA, Janech MG, Tumlin JA, Chawla LS et al. Urinary angiotensinogen and risk of severe AKI. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013;8(2):184-93.
78. Yang X, Chen C, Tian J, Zha Y, Xiong Y, Sun Z et al. Urinary angiotensinogen level predicts aki in acute decompensated heart failure: a prospective, two-stage study. *J Am Soc Nephrol* 2015;26(8):2032-41.
79. Szerlip HM, Chawla LS. Predicting acute kidney injury prognosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2016;25(3):226-31.
80. Du J, Cao X, Zou L, Chen Y, Guo J, Chen Z et al. MicroRNA-21 and risk of severe acute kidney injury and poor outcomes after adult cardiac surgery. *PLoS One* 2013;8(5):e63390.
81. Sherwood OD. Relaxin's physiological roles and other diverse actions. *Endocrine Reviews* 2004;25(2):205-34.
82. Zhang J, Qi YF, Geng B, Pan CS, Zhao J, Chen L et al. Effect of relaxin on myocardial ischemia injury induced by isoproterenol. *Peptides* 2005;26(9):1632-9.
83. Baccari MC, Bani D. Relaxin and nitric oxide signalling. *Current Protein and Peptide Science* 2008;9(6):638-45.
84. Samuel CS, Hewitson TD. Relaxin in cardiovascular and renal disease. *International Society of Nephrology* 2006;69(9):1498-1502.
85. Leo CH, Jelinic M, Ng HH, Tare M, Parry L. Serelaxin: a novel therapeutic for vascular diseases. *Trends in Pharmacological Sciences* 2016;37(6):498-507.
86. Collino M, Rogazzo M, Pini A, Benetti E, Rosa AC, Chiazza F et al. Acute treatment with relaxin protects the kidney against ischaemia/ reperfusion injury. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2013;17(11):1494-1505.
87. Yoshida T, Kumagai H, Kohsaka T, Ikegaya N. Relaxin protects against renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013;305(8):1169-76.
88. Garber SL, Mirochnik Y, Brecklin CS, Unemori EN, Singh AK, Slobodskoy L et al. Relaxin decreases renal interstitial fibrosis and slows progression of renal diseases. *Kidney International* 2001;59(3):876-82.
89. Yoshida T, Kumagai H, Kohsaka T, Ikegaya N. Protective effects of relaxin against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Nephron Experimental Nephrology* 2014;128(1-2):9-20.

90. Zhao S, Lee HY, Sherwood OD. Bioactivities of porcine relaxin and human relaxin do not differ in mice and rats. *Ann. N.Y.Acad. Sci* 2005;1041:126-31.
91. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95(2):351-8.
92. Erdogan H, Fadillioglu E, Yagmurca M, Uçar M, Irmak MK. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. *Urol Res* 2006;34:41-6.
93. Korkmaz A, Kolankaya D. Inhibiting inducible nitric oxide synthase with rutin reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Can J Surg* 2013;56(1):6-14.
94. Danielson LA, Welford A, Harris A. Relaxin improves renal function and histology in aging munich wistar rats. *Journal of the American Society of Nephrology* 2006;17(5):1325-33.
95. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin O, Taskiran R, Tastekin E, Kaymak K. Protective effects of L-Carnitine on myoglobinuric acute renal failure in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2006;33(1-2):119-24.
96. Cebi G, Yildiz S, Uzun G, Oztas Y, Sabuncuoglu S, Kutlu A et al. The effect of hyperbaric oxygen therapy on rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure in rats. *Ren Fail.* 2016;38(9):1554-9.
97. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin O, Batcioglu K, Kaymak K. Effects of caffeic acid phenethyl ester on glycerol-induced acute renal failure in rats. *Clinical Experimental Pharmacology and Physiology* 2004;31(9):575-9.
98. Al Asmari AK, Al Sadoon KT, Obaid AA, Yesunayagam D, Tariq M. Protective effect of quinacrine against glycerol-induced acute kidney injury in rats. *BMC Nephrology* 2017;18(41):1-10.
99. Li X, Wang J, Zhang H, Zhang Q. Renoprotective effect of low-molecular-weight sulfated polysaccharide from the seaweed *Laminaria japonica* on glycerol-induced acute kidney injury in rats. *International Journal of Biological Macromolecules* 2017;(95):132-37.
100. Chander V, Chopra K. Molsidomine, a nitric oxide donor and L-arginine protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure. *Biochimica et Biophysica Acta* 2005;1723(1-3):208-14.
101. Bagley WH, Yang H, Shah KH. Rhabdomyolysis. *Intern Emerg Med* 2007;2(3):210-8.

102. Rodrigo R, Bosco C, Herrera P, Rivera G. Amelioration of myoglobinuric renal damage in rats by chronic exposure to flavonol-rich red wine. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(9):2237-44.
103. Lima RSA, da Silva Junior GB., Liborio AB, Daher Ede F. Acute kidney injury due to rhabdomyolysis. *Saudi Journal Of Kidney Diseases And Transplantation* 2008;19(5):721-29.
104. Atwa A, Hegazy R, Shaffie N, Yassin N, Kenawy S. Protective effects of vasodilatory beta-blockers carvedilol and nebivolol against glycerol model of rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats. *Maced J Med Sci*,15 2016;4(3):329-36.
105. Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24(11):3265-8.
106. Eissa H, Elattar S, Rashed L, Farouk M, Albert S. A study on the effect of L-Carnitine on myoglobinuric acute kidney injury in male rats. *Medical Journal of Cairo University* 2015;83(2):7-12.
107. Zager RA. Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure. *Kidney International* 1996;49(2):314-26
108. Orida NK, Lai CS. Nitric oxide and renal patient. *Dial Transplant* 2000;29(4):174-86.
109. Baylis C. Arginine, arginine analogs and nitric oxide production in chronic kidney disease. *Nat Clin Pract Nephrol* 2006;2(4):209-20.
110. Palm F, Teerlink T, Hansell P. Nitric oxide and kidney oxygenation. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 2009;18(1):68-73.
111. Aydogdu N, Erbas H, Atmaca G, Erten O, Kaymak K. Melatonin reduces nitric oxide via increasing arginase in rhabdomyolysis induced acute renal failure in rats. *Renal Failure* 2006;28(5):435-40.
112. Newaz M, Yousefipour Z. PPAR γ and NAD(P)H oxidase system interaction in glycerol-induced acute renal failure: role of gp91phox subunit of NAD(P)H oxidase. *Renal Failure* 2014;36(4):567-74.
113. Zafrani L, Ergin B, Kapucu A, Ince C. Blood transfusion improves renal oxygenation and renal function in sepsis-induced acute kidney injury in rats. *Critical Care* 2016;20(1):406.
114. Manikandan R, Beulaja M, Thiagarajan R, Pandi M, Arulvasu C, Prabhu NM et al. Ameliorative effects of feruli acid against renal injuries mediated by nuclear factor-kappaB during glycerol-induced nephrotoxicity in wistar rats. *Renal Failure* 2014;36(2):154-65.

115. Gois PHF, Canale D, Volpini RA, Ferreira D, Veras MM, Andrade-Oliveira V et al. Allopurinol attenuates rhabdomyolysis-associated acute kidney injury: Renal and muscular protection. *Free Radical Biology and Medicine* 2016;101:176-89.



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Kontrol grubunun deneysel protokolü	20
Şekil 2. Kontrol+Relaksin grubunun deneysel protokolü	20
Şekil 3. ABH grubunun deneysel protokolü	21
Şekil 4. ABH+Relaksin grubunun deneysel protokolü	21
Şekil 5. Okside Glutasyon ELISA çalışmasının standart grafiği.....	26
Şekil 6. Redükte Glutasyon ELISA çalışmasının standart grafiği.....	27
Şekil 7. Serum NO ELISA çalışmasının standart grafiği.....	28
Şekil 8. Doku NO ELISA çalışmasının standart grafiği	28
Şekil 9. İdrar NO ELISA çalışmasının standart grafiği.....	29
Şekil 10. İdrar KIM-1 ELISA çalışmasının standart grafiği	30
Şekil 11. Serum Relaksin ELISA çalışmasının standart grafiği.....	31
Şekil 12. Gruplar arası ortalama serum üre düzeylerinin karşılaştırılması	39
Şekil 13. Gruplar arası ortalama serum kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması	40
Şekil 14. Gruplar arası ortalama serum sodyum düzeylerinin karşılaştırılması.....	40
Şekil 15. Gruplar arası ortalama serum potasyum düzeylerinin karşılaştırılması.....	41
Şekil 16. Gruplar arası ortalama serum ALT düzeylerinin karşılaştırılması.....	42

Şekil 17. Gruplar arası ortalama serum AST düzeylerinin karşılaştırılması.....	43
Şekil 18. Gruplar arası ortalama serum CK düzeylerinin karşılaştırılması.....	44
Şekil 19. Gruplar arası ortalama serum LDH düzeylerinin karşılaştırılması	45
Şekil 20. Gruplar arası ortalama serum relaksin düzeylerinin karşılaştırılması.....	45
Şekil 21. Gruplar arası ortalama serum NO düzeylerinin karşılaştırılması.....	46
Şekil 22. Gruplar arası ortalama idrar üre düzeylerinin karşılaştırılması.....	47
Şekil 23. Gruplar arası ortalama idrar sodyum düzeylerinin karşılaştırılması	48
Şekil 24. Gruplar arası ortalama idrar kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması	49
Şekil 25. Gruplar arası ortalama kreatinin klirensi düzeylerinin karşılaştırılması	50
Şekil 26. Gruplar arası ortalama FeNa (%) düzeylerinin karşılaştırılması.....	51
Şekil 27. Gruplar arası ortalama idrar nitrik oksit düzeylerinin karşılaştırılması	52
Şekil 28. Gruplar arası ortalama idrar KIM-1 düzeylerinin karşılaştırılması.....	53
Şekil 29. Gruplar arası ortalama idrar hacmi düzeylerinin karşılaştırılması.....	54
Şekil 30. Gruplar arası ortalama böbrek MDA düzeylerinin karşılaştırılması.....	55
Şekil 31. Gruplar arası ortalama böbrek okside glutatyon düzeylerinin karşılaştırılması.....	56
Şekil 32. Gruplar arası ortalama böbrek redükte glutatyon düzeylerinin karşılaştırılması	57
Şekil 33. Gruplar arası ortalama böbrek NO düzeylerinin karşılaştırılması	58
Şekil 34. Gruplar arası ortalama böbrek hasar skoru düzeylerinin karşılaştırılması.....	60
Şekil 35. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu kast düzeylerinin karşılaştırılması	61
Şekil 36. Grup 1'in böbrek kesiti (HEX200)	62
Şekil 37. Grup 2'nin böbrek kesiti (HEX200)	62
Şekil 38. Grup 3'ün böbrek kesiti (HEX200)	63
Şekil 39. Grup 4'ün böbrek kesiti (HEX200)	63
Şekil 40. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu eNOS yaygınlığı düzeylerinin karşılaştırılması	65

Şekil 41. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu eNOS yoğunluğu düzeylerinin karşılaştırılması	66
Şekil 42. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu eNOS total skor düzeylerinin karşılaştırılması	67
Şekil 43. Grup 1'in böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (x200).....	68
Şekil 44. Grup 2'nin böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (x200).....	69
Şekil 45. Grup 3'ün böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (x200).....	69
Şekil 46. Grup 4'ün böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (x200).....	70
Şekil 47. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu iNOS yaygınlığı düzeylerinin karşılaştırılması	71
Şekil 48. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu iNOS yoğunluk düzeylerinin karşılaştırılması	72
Şekil 49. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu iNOS total skor düzeylerinin karşılaştırılması	73
Şekil 50. Grup 1'in böbrek dokusunda iNOS immünoreaktivitesi (x200).....	74
Şekil 51. Grup 2'nin böbrek dokusunda iNOS immünoreaktivitesi (x200).....	75
Şekil 52. Grup 3'ün böbrek dokusunda iNOS immünoreaktivitesi (x200).....	75
Şekil 53. Grup 4'ün böbrek dokusunda iNOS immünoreaktivitesi (x200).....	76

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Serum değişkenlerine ilişkin istatistiksel sonuçlar	36
Tablo 2. İdrar değişkenlerine ilişkin istatistiksel sonuçlar	37
Tablo 3. Böbrek değişkenlerine ilişkin istatistiksel sonuçlar	38
Tablo 4. Böbrek dokusunda histopatolojik değerlendirmelere ilişkin istatistiksel sonuçlar ...	59
Tablo 5. Böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi değerlendirmelerine ilişkin istatistiksel sonuçlar.....	64
Tablo 6. Böbrek dokusunda iNOS immünoreaktivitesi değerlendirmelerine ilişkin istatistiksel sonuçlar.....	70

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Elazığ'ın Baskil ilçesinde doğdum. Öğrenim hayatıma İstanbul'da Yahya Kemal Beyatlı ilkokulunda başladım. Ortaöğretimi Edirne İlhami Ertem Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi'nde, Lisans eğitimimi İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde tamamladım. Yüksek lisans eğitimimi Ocak 2010'da Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda tamamladım. 2010-2011 Eğitim-Öğretim Yılı Bahar yarıyılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora eğitimime başladım. 2013 yılında Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu'nda öğretim görevlisi olarak çalışmaya başladım ve halen aynı üniversitede görevime devam etmekteyim.

Poster: Tarhan Aİ, Aydoğdu N, Altaner Ş, Süt N. Deneysel Miyoglobinin Akut Böbrek Yetmezliğinde Nebivololün Etkileri. TFBD 36. Ulusal Fizyoloji Kongresi Özet Kitabı s.122, Edirne, 2010.

Poster: Aydoğdu N, Poyraz MD, Taştekin E, Öz S, Yavuz YÖ, Çukur Z, Tarhan Aİ, Atagün Ç. Sıçanlarda Böbrek I/R hasarında Aspirinin Etkileri. TFBD 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi Özet Kitabı s.125, Trabzon, 2012.

Ödül: Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 36. Ulusal Fizyoloji Kongresi (14-17 Eylül 2010, Edirne) kapsamında düzenlenen poster bildiri yarışmasında "Deneysel Miyoglobinin Akut Böbrek Yetmezliğinde Nebivololün Etkileri" isimli çalışma ile En İyi 2. Poster Bildiri Ödülü, (2010).

EKLER

EK-1



T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(Trakya University, Local Ethics Committee of Animal Experiments)

Oturum Sayısı: 2015/02

Karar Tarihi: 25.02.2015

KARAR NO: 2015.02.02

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'nun yaptığı, Doktora Öğrencisi Ayşegül İLHAN TARHAN'ın doktora tezi olarak planlanan TÜHADYEK-2015/13 protokol nolu "**Deneysel Miyoglobinin Akut Böbrek Hasarında Relaksinin Etkileri**" başlıklı çalışma görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Doç. Dr. Enis ULUÇAM
Başkan

Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Vet. Hekim Ziya ÇUKUR
Vet. Hek. Üye
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

-KATILMADI-
Doç. Dr. Y. Atakan SEZER
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Doç. Dr. Tevfik AKTOZ
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Yrd. Doç. Dr. Hakan GÜRKAN
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Yrd. Doç. Dr. Elvan BAKAR
Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Ecz. F. Uygur GÜLER
Sivil Toplum Kuruluşu Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Osman GÜLTEKİN
Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

-İZİNLI-